

# BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



## Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

**Aktenzeichen:** 103 11 118.2

**Anmeldetag:** 12. März 2003

**Anmelder/Inhaber:** BASF Plant Science GmbH,  
67056 Ludwigshafen/DE

**Bezeichnung:** Verfahren zur Erhöhung der Resistenz gegen  
Stressfaktoren in Pflanzen

**IPC:** C 07 K, C 12 N

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 25. März 2004  
Deutsches Patent- und Markenamt  
Der Präsident  
Im Auftrag

Ebert

## Verfahren zur Erhöhung der Resistenz gegen Streßfaktoren in Pflanzen

### Beschreibung

5

Die Erfindung betrifft Verfahren zur Erzeugung oder Erhöhung der Resistenz gegen mindestens einen biotischen oder abiotischen Streßfaktor in Pflanzen, bevorzugt gegen pflanzliche Pathogene, durch Erhöhung der Expression mindestens eines Bax-Inhibitor 1 (BI1) Proteins in mindestens einem pflanzlichen Gewebe mit der Maßgabe, dass die Expression in der Blattepidermis im wesentlichen unverändert bleibt. Die Erfindung betrifft ferner rekombinante Expressionskassetten und Vektoren, die eine für ein BI-Protein kodierende Nukleinsäuresequenz unter Kontrolle eines gewebespezifischen Promotors umfassen, wobei der Promotor im wesentlichen keine Aktivität in der Blattepidermis aufweist. Die Erfindung betrifft ferner mit besagten Expressionskassetten oder Vektoren transformierte rekombinante Pflanzen, davon abgeleitete Kulturen, Teile oder rekombinantes Vermehrungsgut, sowie die Verwendung derselben zur Herstellung von Nahrungs-, Futtermitteln, Saatgut, Pharmazeutika oder Feinchemikalien.

Ziel biotechnologischer Arbeiten an Pflanzen ist die Herstellung von Pflanzen mit vorteilhaften, neuen Eigenschaften zum Beispiel zur Steigerung der landwirtschaftlichen Produktivität, zur Qualitätssteigerung bei Nahrungsmitteln oder zur Produktion bestimmter Chemikalien oder Pharmazeutika. Oft sind die natürlichen Abwehrmechanismen der Pflanze gegen Pathogene unzureichend. Allein Pilzerkrankungen führen zu Ernteverlusten in der Höhe von vielen Milliarden US-\$ jährlich. Die Einführung fremder Gene aus Pflanzen, Tieren oder mikrobiellen Quellen kann die Abwehr verstärken. Beispiele sind der Schutz gegen Insektenfraß in Tabak durch Expression von *Bacillus thuringiensis* Endotoxinen (Vaeck et al. (1987) Nature 328:33-37) oder der Schutz des Tabaks gegen Pilzbefall durch Expression einer Chitinase aus der Bohne (Broglie et al. (1991) Science 254:1194-1197). Die meisten der beschriebenen Ansätze gewähren jedoch nur eine Resistenz gegen ein einzelnes Pathogen oder gegen ein schmales Spektrum von Pathogenen.

40

Es gibt nur wenige Ansätze, die Pflanzen eine Resistenz gegen ein breiteres Spektrum von Pathogenen, vor allem Pilzpathogene, verleihen. Die systemische erworbene Resistenz ("systemic acquired resistance"; SAR) - ein Abwehrmechanismus bei verschiedenen Pflanze/Pathogen-Interaktionen - kann durch Applikation von endogene Botenstoffe wie Jasmonat (JA) oder

45

Salizylsäure (SA) vermittelt werden (Ward et al. (1991) Plant Cell 3:1085-1094; Uknes et al. (1992) Plant Cell 4(6):645-656). Ähnliche Effekte können auch durch synthetische Verbindungen wie 2,6-Dichlorisonikotinsäure (DCINA) oder Benzo(1,2,3)thiadiazol-7-thiocarbonsäure-S-methylester (BTH; Bion<sup>®</sup>) (Friedrich et al. (1996) Plant J 10(1):61-70; Lawton et al. (1996) Plant J 10:71-82) bewirkt werden. Auch die Expression der im Rahmen eines SAR hochregulierten "pathogenesis related" (PR) Proteine vermag zum Teil eine Pathogenresistenz zu bewirken.

10 In Gerste ist der Mlo-Locus als negativer Regulator der Pathogenabwehr beschrieben. Der Verlust oder Funktionsverlust ("loss-of-function") des Mlo-Gens bedingt eine erhöhte, rassen-unspezifische Resistenz gegen zahlreiche Mehltausisolate (Büschges R et al. (1997) Cell 88:695-705; Jorgensen JH (1977) Euphytica 26:55-62; Lyngkjaer MF et al. (1995) Plant Pathol 44:786-790).

15 Das Mlo-Gen ist beschrieben (Büschges R et al. (1997) Cell 88:695-705; WO 98/04586; Schulze-Lefert P, Vogel J (2000) Trends Plant Sci. 5:343-348). Verschiedene Mlo-Homologe aus anderen Getreidearten wurden isoliert. Verfahren unter Verwendung dieser Gene zum Erzielen einer Pathogenresistenz sind beschrieben (WO 98/04586; WO 00/01722; WO 99/47552). Nachteilig ist, dass Mlo-defiziente Pflanzen auch in Abwesenheit eines Pathogens den o.g. Abwehrmechanismus initiieren, was sich in einem spontanen Absterben von Blattzellen äußert (Wolter M et al. (1993) Mol Gen Genet 239:122-128). Dadurch erleiden mlo-resistente Pflanzen eine Ertragseinbuße von ca. 5% (Jörgensen JH (1992) Euphytica 63: 141-152). Das spontane Absterben der Blattzellen bedingt ferner eine nachteilige Hypersuszeptibilität gegen nekrotrophe und hemibiotrophe Pathogene wie *Magnaporthe grisea* (*M. grisea*) oder *Cochliobolus sativus* (*Bipolaris sorokiniana*) (Jarosch B et al. (1999) Mol Plant Microbe Interact 12:508-514; Kumar J et al. (2001) Phytopathology 91:127-133).

35 Faktoren die einen der mlo-Resistenz vergleichbaren Effekt gegen nekrotrophe Pilze vermitteln, konnten bislang nicht identifiziert werden. Dies mag an dem besonderen Infektionsmechanismus der nekrotrophen Pilze liegen: Anstelle einer Appressorien-vermittelten Penetration infundieren sie zunächst die pflanzliche Wirtszelle mit Mykotoxinen und Enzymen, was zu einem Absterben der Zelle führt. Erst danach wird die Zelle penetriert (Shirasu K and Schulze-Lefert P (2000) Plant Mol Biol 44:371-385). Ähnliche Infektionsstrategien verfolgen

bakterielle Pathogene wie *Erwinia carotovora* (Whitehead NA et al. (2002) *Antonie van Leeuwenhoek* 81: 223-231). Eine Penetrationsresistenz mit Hilfe von Papillenbildung etc. stellt hier keine effiziente Abwehrstrategie dar.

5 Apoptose, auch als programmierter Zelltod bezeichnet, ist ein essentieller Mechanismus zur Aufrechterhaltung der Gewebehomöostase und steht damit der Zellteilung als negativ regulierender Mechanismus gegenüber. Im vielzelligen Organismus  
10 ist die Apoptose ein natürlicher Bestandteil der Ontogenese und u.a. an der Entwicklung der Organe und der Beseitigung von gealterten, infizierten oder mutierten Zellen beteiligt. Durch die Apoptose wird eine effiziente Elimination von unerwünschten Zellen erreicht. Eine Störung oder Inhibition der Apoptose trägt  
15 zur Pathogenese verschiedener Erkrankungen bei, unter anderem zur Karzinogenese. Die Haupteffektoren der Apoptose sind Aspartat-spezifische Cystein-Proteasen, die sogenannten Caspasen. Ihre Aktivierung kann durch mindestens zwei Apoptose-Signalwege stattfinden: Zum einen durch die Aktivierung der TNF-  
20 (Tumor Necrosis Factor) Rezeptorfamilie, zum anderen spielen Mitochondrien eine zentrale Rolle. Die Aktivierung des mitochondrialen Apoptose-Signalweges wird durch Proteine der Bcl-2-Familie reguliert. Diese Proteinfamilie besteht aus anti-apoptotischen sowie pro-apoptotischen Proteinen wie z.B. Bax. Im  
25 Falle eines apoptotischen Stimulus findet eine allosterische Konformationsänderung des Bax-Proteins statt, welche zur Verankerung des Proteins in der mitochondrialen Außenmembran und seiner Oligomerisierung führt. Durch diese Oligomere werden pro-apoptotischen Moleküle aus den Mitochondrien ins Zytosol  
30 freigesetzt, die eine apoptotische Signalkaskade und letztlich die Degradierung spezifischer zellulärer Substrate bedingen, was den Zelltod zur Folge hat. Der Bax Inhibitor-1 BI1 wurde über seine Eigenschaft isoliert, die pro-apoptotische Wirkung von BAX zu inhibieren (Xu Q & Reed JC (1998) *Mol Cell* 1(3): 337-346).  
35 BI1 stellt ein hochkonserviertes Protein dar. Es findet sich überwiegend als integraler Bestandteil intrazellulärer Membranen. BI1 interagiert mit bcl-2 und bcl-xl. Überexpression von BI1 in Säugetierzellen unterdrückt die pro-apoptotische Wirkung von BAX, Etoposid und Staurosporin, aber nicht von Fas-Antigen (Roth W and Reed JC (2002) *Nat Med* 8: 216-218). Die  
40 Inhibition von BI1 durch antisense-RNA hingegen induziert Apoptose (Xu Q & Reed JC (1998) *Mol Cell* 1(3):337-346). Die ersten pflanzlichen Homologen von BI1 wurden aus Reis und *Arabidopsis* isoliert (Kawai et al. (1999) *FEBS Lett* 464:143-147;



Sanchez et al (2000) Plant J 21:393-399). Diese pflanzlichen Proteine supprimieren BAX-induzierten Zelltod in Hefe. Die Aminosäure-Sequenzhomologie zu menschlichem Bcl1 beträgt ca. 45%. Das Arabidopsis-Homolog AtBcl1 vermag in rekombinanten Pflanzen die pro-apoptotische Wirkung von BAX aus Maus zu supprimieren (Kawai-Yamada et al. (2001) Proc Natl Acad Sci USA 98(21):12295-12300). Das Reis (Oryza sativa) Bcl1-Homolog OsBcl1 wird in allen pflanzlichen Geweben exprimiert (Kawai et al. (1999) FEBS Lett 464: 143-147). Beschrieben sind ferner Bcl1-Gene aus Gerste (Hordeum vulgare; GenBank Acc.-No.: AJ290421), Reis (GenBank Acc.-No.: AB025926), Arabidopsis (GenBank Acc.-No.: AB025927), Tabak (GenBank Acc.-No.: AF390556) und Raps (GenBank Acc.-No.: AF390555, Bolduc N et al. (2003) Planta 216:377-386). Die Expression von Bcl1 in Gerste wird infolge einer Infektion mit Mehltau hochreguliert (Hückelhoven R et al. (2001) Plant Mol Biol 47(6):739-748).

WO 00/26391 beschreibt die Überexpression der anti-apoptotischen Gene Ced-9 aus C. elegans, sfiAP aus Spodoptera frugiperda, bcl-2 aus Mensch sowie bcl-xl aus Huhn in Pflanzen zur Erhöhung der Resistenz gegen nekrotrophe bzw. hemibiotrophe Pilze. Pflanzliche Bcl1 Homologe werden nicht offenbart. Die Expression erfolgt unter Kontrolle konstitutiver Promotoren. Beschrieben ist ferner die Expression eines Bcl1 Proteins aus Arabidopsis unter dem starken konstitutiven 35S CaMV Promotor in Reiszellen und eine dadurch induzierte Resistenz gegen Zelltod induzierende Substanzen aus Magnaporthe grisea (Matsumura H et al. (2003) Plant J 33:425-434).

Überraschenderweise wurde im Rahmen dieser Erfindung gefunden, dass eine konstitutive Expression eines Bcl1-Proteins zwar eine Resistenz gegen nekrotrophe Pilze bedingt, jedoch ein Brechen der mlo-vermittelten Resistenz gegen obligat-biotrophen Echten Mehltau (siehe Vergleichsversuch 1) zur Folge hat. Dies stellt den wirtschaftlichen Nutzen der im Stand der Technik beschriebenen Verfahren in Frage.

Es bestand die Aufgabe, Verfahren zur Pathogenabwehr in Pflanzen bereitzustellen, die eine effiziente Abwehr pflanzlicher Pathogene (bevorzugt nekrotropher Pathogene) ermöglichen, ohne eine ggf. bestehende Resistenz gegen andere Pathogene (wie beispielsweise biotrophe Pathogene) zu brechen. Diese Aufgabe wird durch das erfindungsgemäße Verfahren gelöst.

Ein erster Gegenstand der Erfindung betrifft Verfahren zur Erzeugung oder Erhöhung der Resistenz gegen mindestens einen biotischen oder abiotischen Streßfaktor in Pflanzen, wobei nachfolgende Arbeitsschritte umfaßt sind

5

- a) Erhöhung der Proteinmenge oder Funktion mindestens eines Bax Inhibitor-1 (BI1) Proteins in mindestens einem pflanzlichen Gewebe mit der Maßgabe, dass die Expression in der Blattepidermis im wesentlichen unverändert bleibt, und

10

- b) Auswahl der Pflanzen, bei denen im Vergleich zur Ausgangspflanze eine Resistenz gegen mindestens einen biotischen oder abiotischen Streßfaktor besteht oder erhöht ist.

15

Bevorzugt ist der biotische oder abiotische Streßfaktor ein Pathogen, besonders bevorzugt ein Pathogen ausgewählt aus der Gruppe der nekrotrophen und hemibiotrophen Pathogene.

20

In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Proteinmenge oder Funktion des BI1-Proteins wurzel-, knollen- oder mesophyll-spezifisch, besonders bevorzugt mesophyll-spezifisch, beispielsweise durch rekombinante Expression einer für besagtes BI1-Protein kodierenden Nukleinsäuresequenz unter

25

Kontrolle eines wurzel-, knollen- oder mesophyll-spezifischen Promotors, bevorzugt unter Kontrolle eines mesophyll-spezifischen Promotors.

30

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform kann die Erhöhung der Proteinmenge oder Funktion mindestens eines pflanzlichen BI1-Proteins kombiniert werden mit einem mlo-resistenten Phänotyp und so eine kombinierte Resistenz gegen sowohl nekrotrophe als auch biotrophe Pathogene gewähren.

35

Das BI1-Protein aus Gerste (hvBI1) wird vorwiegend im Mesophyll exprimiert (Beispiel 6) und infolge einer Infektion mit *Blumeria* (syn. Erysiphe) graminis f. sp. hordei hochreguliert (Beispiel 2). Die rekombinante mesophyll-spezifische Überexpression in mlo-resistenter Gerste führt - neben der Resistenz gegen

40

insbesondere nekrotrophe und hemibiotrophe Pathogene - zu einer *Blumeria* (syn. Erysiphe) graminis f. sp. hordei -resistenten Pflanze, die keine nekrotischen Flecken („mlo-Flecken“; negative Begleiterscheinung der mlo-Resistenz) zeigt. Unter Ausnutzen dieses Effekts lassen sich die negativen Begleiterscheinungen

der mlo-vermittelten Resistenz (Ertragseinbuße von ca. 5%,  
Jørgensen JH (1992) Euphytica 63: 141-152); Hypersuszeptibilität  
gegen nekrotrophe Pilze, Jarosch B et al. (1999) Mol Plant  
Microbe Interact 12:508-514; Kumar J et al. (2001)

- 5 Phytopathology 91:127-133) unterdrücken, ohne dass die mlo-  
Resistenz selber beeinträchtigt wird.

- 10 Ferner kann überraschenderweise gezeigt werden, dass eine  
Überexpression von BI1 eine Resistenz gegen Streßfaktoren wie  
nekrosen-auslösende Agenzien (isoliert z.B. aus nekrotrophen  
Schadpilzen; Beispiel 2) zur Folge hat.

- 15 Das erfindungsgemäße Verfahren bietet demnach eine effiziente  
biotechnologische Strategie der Resistenz gegen Nekrotisierung  
durch endogenen, abiotischen und biotischen Streß -  
beispielsweise mlo-Flecken, Ozonschäden, nekrotrophe und  
hemibiotrophe Schadorganismen.

- 20 BI1-Proteine scheinen zentrale Regulatoren der rasse-  
unspezifischen Pilzresistenz in Pflanzen zu sein. Dies  
ermöglicht eine breite Einsetzbarkeit in biotechnologischen  
Strategien zur Erhöhung der Pathogenresistenz in Pflanzen  
insbesondere der Pilzresistenz. Das erfindungsgemäße Verfahren  
kann im Prinzip auf alle Pflanzenarten angewendet werden. BI1-  
25 Proteine wurden in zahlreichen Pflanzen - Monokotyledonen und  
Dikotyledonen - identifiziert (s.o.).

- 30 "Ungefähr" meint im Rahmen dieser Erfindung im Zusammenhang mit  
Zahlen- oder Größenangaben einen Zahlen- oder Größenbereich um  
den angegebenen Zahlen- oder Größenwert herum. Im allgemeinen  
meint der Begriff ungefähr einen Bereich von jeweils 20% des  
angegebenen Wertes nach oben und nach unten.

- 35 "Pflanze" im Rahmen der Erfindung meint alle Gattungen und Arten  
höherer und niedrigerer Pflanzen des Pflanzenreiches.  
Eingeschlossen unter dem Begriff sind die reifen Pflanzen,  
Saatgut, Sprossen und Keimlinge, sowie davon abgeleitete Teile,  
Vermehrungsgut, Pflanzenorgane, Gewebe, Protoplasten, Kallus und  
andere Kulturen, zum Beispiel Zellkulturen, sowie alle anderen  
40 Arten von Gruppierungen von Pflanzenzellen zu funktionellen oder  
strukturellen Einheiten. Reife Pflanzen meint Pflanzen zu jedem  
beliebigen Entwicklungsstadium jenseits des Keimlings. Keimling  
meint eine junge, unreife Pflanze in einem frühen  
Entwicklungsstadium.

"Pflanze" umfaßt alle einjährigen und mehrjährige, monokotyledonen und dikotyledonen Pflanzen und schließt beispielhaft jedoch nicht einschränkend solche der Gattungen

- 5 Cucurbita, Rosa, Vitis, Juglans, Fragaria, Lotus, Medicago, Onobrychis, Trifolium, Trigonella, Vigna, Citrus, Linum, Geranium, Manihot, Daucus, Arabidopsis, Brassica, Raphanus, Sinapis, Atropa, Capsicum, Datura, Hyoscyamus, Lycopersicon, Nicotiana, Solarium, Petunia, Digitalis, Majorana, Cichorium,
- 10 Helianthus, Lactuca, Bromus, Asparagus, Antirrhinum, Heterocallis, Nemesis, Pelargonium, Panieum, Pennisetum, Ranunculus, Senecio, Salpiglossis, Cucumis, Browaalia, Glycine, Pisum, Phaseolus, Lolium, Oryza, Zea, Avena, Hordeum, Secale, Triticum, Sorghum, Picea und Populus ein.

15

Der Begriff "Pflanze" umfaßt bevorzugt monokotyledone Kulturpflanzen, wie zum Beispiel Getreidearten wie Weizen, Gerste, Hirse, Roggen, Triticale, Mais, Reis, Sorghum oder Hafer sowie Zuckerrohr.

20

Ferner umfaßt der Begriff dikotyledonen Kulturpflanzen, wie zum Beispiel

25

- Brassicaceae wie Raps, Rübsen, Kresse, Arabidopsis, Kohlarten,

- Leguminosae wie Soja, Alfalfa, Erbse, Bohnengewächsen oder Erdnuß

30

- Solanaceae wie Kartoffel, Tabak, Tomate, Aubergine oder Paprika,

- Asteraceae wie Sonnenblume, Tagetes, Salat oder Calendula,

35

- Cucurbitaceae wie Melone, Kürbis oder Zucchini,

40

sowie Lein (Flachs), Baumwolle, Hanf, Klee, Spinat, Roter Pfeffer, Möhre, Karotte, Rübe, Rettich, Zuckerrübe, Süßkartoffel, Gurke, Chicorée, Blumenkohl, Brokkoli, Spargel, Zwiebel, Knoblauch, Sellerie, Erdbeere, Himbeere, Brombeere, Ananas, Avocado, und den verschiedenen Baum-, Strauch-, Nuß- und Weinarten. Baumarten umfaßt bevorzugt Pflaume, Kirsche, Pfirsich, Nektarine, Aprikose, Banane, Papaya, Mango, Apfel,

Birne, Quitte.

Im Rahmen der Erfindung sind solche Pflanzen bevorzugt, die als Nahrungs- oder Futtermittel zum Einsatz kommen, ganz besonders bevorzugt monokotyledone Gattungen und Arten mit landwirtschaftlicher Bedeutung wie Weizen, Hafer, Hirse, Gerste, Roggen, Mais, Reis, Buchweizen, Sorghum, Triticale, Dinkel, Leinsamen oder Zuckerrohr.

- 10 Der Begriff "Streßfaktor" umfaßt im Rahmen der vorliegenden Erfindung biotische Streßfaktoren (wie insbesondere die unten aufgeführten Pathogene) sowie abiotische Streßfaktoren. Beispielfhaft jedoch nicht einschränkend sind als abiotische Streßfaktoren zu nennen: Chemischer Streß (z.B. durch Agrar- und/oder Umweltchemikalien), US-Bestrahlung, Hitze, Kälte, Wassermangel, erhöhte Feuchtigkeit.

- 20 "Streßresistenz" meint das Vermindern oder Abschwächen von Symptomen einer Pflanze infolge von Stress. Die Symptome können vielfältiger Art sein, umfassen aber bevorzugt solche die direkt oder indirekt zu einer Beeinträchtigung Qualität der Pflanze, der Quantität des Ertrages, der Eignung zur Verwendung als Futter- oder Nahrungsmittel führen oder aber auch Aussaat, Anbau, Ernte oder Prozessierung des Erntegutes erschweren.

- 25 "Pathogenresistenz" meint das Vermindern oder Abschwächen von Krankheitssymptomen einer Pflanze infolge eines Befalls durch mindestens ein Pathogen. Die Symptome können vielfältiger Art sein, umfassen aber bevorzugt solche die direkt oder indirekt zu einer Beeinträchtigung Qualität der Pflanze, der Quantität des Ertrages, der Eignung zur Verwendung als Futter- oder Nahrungsmittel führen oder aber auch Aussaat, Anbau, Ernte oder Prozessierung des Erntegutes erschweren.

- 35 "Verleihen", "bestehen", "erzeugen" oder "erhöhen" einer Stress- oder Pathogenresistenz meint, dass die Abwehrmechanismen einer bestimmten Pflanzenart oder -sorte durch Anwendung des erfindungsgemäßen Verfahrens im Vergleich zu dem Wildtyp der Pflanze ("Ausgangspflanze"), auf den das erfindungsgemäße Verfahren nicht angewendet wurde, unter ansonsten gleichen Bedingungen (wie beispielsweise Klima- oder Anbaubedingungen, Stress- oder Pathogenart etc.) eine erhöhte Resistenz gegen ein und mehrere Stressfaktoren bzw. Pathogene aufweist. Dabei äußert sich die erhöhte Resistenz bevorzugt in einer verminderten

Ausprägung der Stress- oder Krankheitssymptome, wobei Krankheitssymptome - neben den oben erwähnten Beeinträchtigungen - auch beispielsweise die Penetrationseffizienz eines Pathogens in die Pflanze oder pflanzliche Zellen oder die Proliferationseffizienz in oder auf denselben umfaßt. Dabei sind die Stress- oder Krankheitssymptome bevorzugt um mindestens 10 % oder mindestens 20 %, besonders bevorzugt um mindestens 40 % oder 60 %, ganz besonders bevorzugt um mindestens 70 % oder 80 %, am meisten bevorzugt um mindestens 90 % oder 95 % vermindert.

"Auswahl" meint in Bezug auf Pflanzen, bei denen - im Unterschied oder Vergleich zur Ausgangspflanze - die Resistenz gegen mindestens einen Stressfaktor oder Pathogen besteht oder erhöht ist, all die Verfahren, die eine zur Erkennung einer vorliegenden oder erhöhten Stress- bzw. Pathogenresistenz geeignet sind. Dies können beispielsweise Symptome der Pathogeninfektion sein (z.B. Nekrosen-Ausbildung bei Pilzinfektion) aber auch die oben beschriebenen Symptome umfassen, die die Qualität der Pflanze, die Quantität des Ertrages, die Eignung zur Verwendung als Futter- oder Nahrungsmittel usw. betreffen.

"Pathogen" meint im Rahmen der Erfindung beispielsweise jedoch nicht einschränkend Viren oder Viroide, Bakterien, Pilze, tierische Schädlinge, wie beispielsweise Insekten oder Nematoden. Besonders bevorzugt sind Pilze, insbesondere nekrotrophe oder hemibiotrophe Pilze. Es ist jedoch anzunehmen, dass die mesophyll-spezifische Expression eines B11-Proteins auch eine Resistenz gegen weitere Pathogene bewirkt, da insgesamt eine Resistenz gegen Streßfaktoren erzeugt wird.

Beispielsweise jedoch nicht einschränkend seien nachfolgende Pathogene zu nennen:

#### 1. Pilzpathogene oder pilz-ähnliche Pathogene:

Pilzpathogene oder pilz-ähnliche Pathogene (wie z.B. Chromista) stammen vorzugsweise aus der Gruppe umfassend Plasmodiophoramycota, Oomycota, Ascomycota, Chytridiomyceten, Zygomyceten, Basidiomycota und Deuteromyceten (Fungi imperfecti). Beispielhaft jedoch nicht einschränkend seien die in Tabelle 1 bis 4 genannten Pathogene und die mit ihnen in Zusammenhang gebrachten Erkrankungen zu nennen. Folgende

## 10

englische und deutsche Termini können alternativ verwendet werden:

- 5 Ährenfäule - ear rot / head blight  
 Stengelfäule - stalk rot  
 Wurzelfäule - root rot  
 Rost - rust  
 Falscher Mehltau downy mildew

- 10 Weiter Übersetzungen können beispielsweise bei <http://www.bba.de/english/database/psmengl/pilz.htm> gefunden werden.

- 15 Tabelle 1: Erkrankungen hervorgerufen durch biotrophe, phytopathogene Pilze

Erkrankung	Pathogen
Braunrost	<i>Puccinia recondita</i>
Gelbrost	<i>P. striiformis</i>
Echter Mehltau	<i>Erysiphe graminis</i> / <i>Blumeria graminis</i>
Rost (gemeiner Mais)	<i>Puccinia sorghi</i>
Rost (südlicher Mais)	<i>Puccinia polysora</i>
Tabak Blattflecken	<i>Cercospora nicotianae</i>
Rost (tropischer Mais)	<i>Physopella pallescens</i> , <i>P. zeae</i> = <i>Angiopsora zeae</i>

- 20 Tabelle 2: Erkrankungen hervorgerufen durch nekrotrophe und/oder hemibiotrophe Pilze und Oomyceten

Erkrankung	Pathogen
Spelzenbräune	<i>Septoria (Stagonospora) nodorum</i>
Blattdürre	<i>Septoria tritici</i>
Ährenfusariosen	<i>Fusarium</i> spp.
Halmbruchkrankheit	<i>Pseudocercospora herpotrichoides</i>
Flugbrand	<i>Ustilago</i> spp.
Kraut- und Knollenfäule	<i>Phytophthora infestans</i>
Weizensteinbrand	<i>Tilletia caries</i>
Schwarzbeinigkeit	<i>Gaeumannomyces graminis</i>
Anthracnose leaf blight	<i>Colletotrichum graminicola</i> (teleomorph: <i>Glomerella graminicola</i> Politis); <i>Glomerella tucumanensis</i>
Anthracnose stalk rot	

Erkrankung	Pathogen
	(anamorph: <i>Glomerella falcatum</i> Went)
Aspergillus ear and kernel rot	<i>Aspergillus flavus</i>
Banded leaf and sheath spot ("Wurzeltöter")	<i>Rhizoctonia solani</i> Kuhn = <i>Rhizoctonia microsclerotia</i> J. Matz (telomorph: <i>Thanatephorus cucumeris</i> )
Black bundle disease	<i>Acremonium strictum</i> W. Gams = <i>Cephalosporium acremonium</i> Auct. non Corda
Black kernel rot	<i>Lasiodiplodia theobromae</i> = <i>Botryodiplodia theobromae</i>
Borde blanco	<i>Marasmiellus</i> sp.
Brown spot (black spot, stalk rot)	<i>Physoderma maydis</i>
Cephalosporium kernel rot	<i>Acremonium strictum</i> = <i>Cephalosporium acremonium</i>
Charcoal rot	<i>Macrophomina phaseolina</i>
Corticium ear rot	<i>Thanatephorus cucumeris</i> = <i>Corticium sasakii</i>
Curvularia leaf spot	<i>Curvularia clavata</i> , <i>C. eragrostidis</i> , = <i>C. maculans</i> (teleomorph: <i>Cochliobolus eragrostidis</i> ), <i>Curvularia inaequalis</i> , <i>C. intermedia</i> (teleomorph: <i>Cochliobolus intermedius</i> ), <i>Curvularia lunata</i> (teleomorph: <i>Cochliobolus lunatus</i> ), <i>Curvularia pallescens</i> (teleomorph: <i>Cochliobolus pallescens</i> ), <i>Curvularia senegalensis</i> , <i>C. tuberculata</i> (teleomorph: <i>Cochliobolus tuberculatus</i> )
Didymella leaf spot	<i>Didymella exitalis</i>
Diplodia Ähren- und Stengelfäule	<i>Diplodia frumenti</i> (teleomorph: <i>Botryosphaeria festucae</i> )
Diplodia Ähren- und Stengelfäule, seed rot and seedling blight	<i>Diplodia maydis</i> = <i>Stenocarpella maydis</i>
Diplodia leaf spot or streak	<i>Stenocarpella macrospora</i> = <i>Diplodia leaf macrospora</i>
Brown stripe downy mildew	<i>Sclerophthora rayssiae</i> var. <i>zeae</i>
Crazy top downy mildew	<i>Sclerophthora macrospora</i> = <i>Sclerospora macrospora</i>



Erkrankung	Pathogen
Green ear downy mildew (graminicola downy mildew)	Sclerospora graminicola
Dry ear rot (cob, kernel and stalk rot)	Nigrospora oryzae (teleomorph: Khuskia oryzae)
Ährenfäulen (minor)	Alternaria alternata = A. tenuis, Aspergillus glaucus, A. niger, Aspergillus spp., Botrytis cinerea (teleomorph: Botryotinia fuckeliana), Cunninghamella sp., Curvularia pallescens, Doratomyces stemonitis = Cephalotrichum stemonitis, Fusarium culmorum, Gonatobotrys simplex, Pithomyces maydis, Rhizopus microsporus Tiegh., R. stolonifer = R. nigricans, Scopulariopsis brumptii
Ergot (horse's tooth)	Claviceps gigantea (anamorph: Sphacelia sp.)
Eyespot	Aureobasidium zeae = Kabatiella zeae
Fusarium Ähren- und Stengelfäule	Fusarium subglutinans = F. moniliforme var. subglutinans
Fusarium kernel, root and stalk rot, seed rot and seedling blight	Fusarium moniliforme (teleomorph: Gibberella fujikuroi)
Fusarium Stengelfäule, seedling root rot	Fusarium avenaceum (teleomorph: Gibberella avenacea)
Gibberella Ähren- u. Stengelfäule	Gibberella zeae (anamorph: Fusarium graminearum)
Graue Ährenfäule	Botryosphaeria zeae = Physalospora zeae (anamorph: Macrophoma zeae)
Gray leaf spot (Cercospora leaf spot)	Cercospora sorghi = C. sorghi var. maydis, C. zeae-maydis
Helminthosporium root rot	Exserohilum pedicellatum = Helminthosporium pedicellatum (teleomorph: Setosphaeria pedicellata)
Hormodendrum Ährenfäule (Cladosporium Fäule)	Cladosporium cladosporioides = Hormodendrum cladosporioides, C. herbarum (teleomorph: Mycosphaerella tassiana)
Leaf spots, minor	Alternaria alternata, Ascochyta maydis, A. tritici, A. zeicola, Bipolaris victoriae =

Erkrankung	Pathogen
	Helminthosporium victoriae (teleomorph: Cochliobolus victoriae), C. sativus (anamorph: Bipolaris sorokiniana = H. sorokinianum = H. sativum), Epicoccum nigrum, Exserohilum prolatum = Drechslera prolata (teleomorph: Setosphaeria prolata) Graphium penicillioides, Leptosphaeria maydis, Leptothyrium zeae, Ophiosphaerella herpotricha, (anamorph: Scolecosporella sp.), Paraphaeosphaeria michotii, Phoma sp., Septoria zeae, S. zeicola, S. zeina
Northern corn leaf blight (white blast, crown stalk rot, stripe)	Setosphaeria turcica (anamorph: Exserohilum turcicum = Helminthosporium turcicum)
Northern corn leaf spot Helminthosporium ear rot (race 1)	Cochliobolus carbonum (anamorph: Bipolaris zeicola = Helminthosporium carbonum)
Penicillium Ährenfäule (blue eye, blue mold)	Penicillium spp., P. chrysogenum, P. expansum, P. oxalicum
Phaeocystostroma Stengel- und Wurzelfäule	Phaeocystostroma ambiguum, = Phaeocystosporella zeae
Phaeosphaeria leaf spot	Phaeosphaeria maydis = Sphaerulina maydis
Physalospora Ährenfäule (Botryosphaeria Ährenfäule)	Botryosphaeria festucae = Physalospora zeicola (anamorph: Diplodia frumenti)
Purple leaf sheath	Hemiparasitic bacteria and fungi
Pyrenochaeta Stengel- und Wurzelfäule	Phoma terrestris = Pyrenochaeta terrestris
Pythium Wurzelfäule	Pythium spp., P. arrhenomanes, P. graminicola
Pythium Stengelfäule	Pythium aphanidermatum = P. butleri L.
Red kernel disease (ear mold, leaf and seed rot)	Epicoccum nigrum
Rhizoctonia Ährenfäule (sclerotial rot)	Rhizoctonia zeae (teleomorph: Waitea circinata)
Rhizoctonia Wurzel- und Stengelfäule	Rhizoctonia solani, Rhizoctonia zeae
Wurzelfäulen (minor)	Alternaria alternata, Cercospora sorghi, Dictyochoeta fertilis, Fusarium acuminatum (teleomorph:

Erkrankung	Pathogen
	Gibberella acuminata), F. equiseti (teleomorph: G. intricans), F. oxysporum, F. pallidoroseum, F. poae, F. roseum, G. cyanogena, (anamorph: F. sulphureum), Microdochium bolleyi, Mucor sp., Periconia circinata, Phytophthora cactorum, P. drechsleri, P. nicotianae var. parasitica, Rhizopus arrhizus
Rostratum leaf spot (Helminthosporium leaf disease, ear and stalk rot)	Setosphaeria rostrata, (anamorph: Exserohilum rostratum = Helminthosporium rostratum)
Falscher Java Mehltau	Peronosclerospora maydis = Sclerospora maydis
Falscher Philippinen Mehltau	Peronosclerospora philippinensis = Sclerospora philippinensis
Falscher Sorghum Mehltau	Peronosclerospora sorghi = Sclerospora sorghi
Spontaneum downy mildew	Peronosclerospora spontanea = Sclerospora spontanea
Falscher Zuckerrohr-Mehltau	Peronosclerospora sacchari = Sclerospora sacchari
Sclerotium Ährenfäule (southern blight)	Sclerotium rolfsii Sacc. (teleomorph: Athelia rolfsii)
Seed rot-seedling blight	Bipolaris sorokiniana, B. zeicola = Helminthosporium carbonum, Diplodia maydis, Exserohilum pedicellatum, Exserohilum turcicum = Helminthosporium turcicum, Fusarium avenaceum, F. culmorum, F. moniliforme, Gibberella zeae (anamorph: F. graminearum), Macrophomina phaseolina, Penicillium spp., Phomopsis sp., Pythium spp., Rhizoctonia solani, R. zeae, Sclerotium rolfsii, Spicaria sp.
Selenophoma leaf spot	Selenophoma sp.
Sheath rot	Gaeumannomyces graminis
Shuck rot	Myrothecium gramineum
Silage mold	Monascus purpureus, M. ruber
Flugbrand (Smut, common)	Ustilago zeae = U. maydis
Smut, false	Ustilaginoidea virens
Kolbenbrand	Sphacelotheca reiliana =

Erkrankung	Pathogen
(Smut, head)	Sporisorium holcisorghi
Southern corn leaf blight and stalk rot	Cochliobolus heterostrophus (anamorph: Bipolaris maydis = Helminthosporium maydis)
Southern leaf spot	Stenocarpella macrospora = Diplodia macrospora
Stengelfäulen (minor)	Cercospora sorghi, Fusarium epispheeria, F. merismoides, F. oxysporum Schlechtend, F. poae, F. roseum, F. solani (teleomorph: Nectria haematococca), F. tricinctum, Mariannaea elegans, Mucor sp., Rhopoglyphus zeae, Spicaria sp.
Lagerfäulen (Storage rots)	Aspergillus spp., Penicillium spp. und weitere Pilze
Tar spot	Phyllachora maydis
Trichoderma ear rot and root rot	Trichoderma viride = T. lignorum teleomorph: Hypocrea sp.
White ear rot, root and stalk rot	Stenocarpella maydis = Diplodia zeae
Yellow leaf blight	Ascochyta ischaemi, Phyllosticta maydis (teleomorph: Mycosphaerella zeae-maydis)
Zonate leaf spot	Gloeocercospora sorghi

Tabelle 4: Erkrankungen hervorgerufen durch Pilze und Oomyceten mit unklarer Einstufung hinsichtlich biotrophen, hemibiotrophen bzw. nekrotrophen Verhaltens

5

Erkrankung	Pathogen
Hyalothyridium leaf spot	Hyalothyridium maydis
Late wilt	Cephalosporium maydis

Besonders bevorzugt sind

10

- Plasmodiophoromycota wie Plasmodiophora brassicae (Kohlhernie), Spongospora subterranea, Polymyxa graminis,
- Oomycota wie Bremia lactucae (Falscher Mehltau an Salat), Peronospora (Falscher Mehltau) bei Löwenmaul (P. antirrhini), Zwiebel (P. destructor), Spinat (P.

- effusa), Sojabohne (*P. manchurica*), Tabak (Blauschimmel; *P. tabacina*) Alfalfa und Klee (*P. trifolium*), *Pseudoperonospora humuli* (Falscher Mehltau an Hopfen), *Plasmopara* (Falscher Mehltau bei Trauben) (*P. viticola*) und Sonnenblume (*P. halstedii*), *Sclerophthora macrospora* (Falscher Mehltau bei Cerealien und Gräsern), *Pythium* (z.B. Wurzelbrand an Beta-Rübe durch *P. debaryanum*), *Phytophthora infestans* (Kraut- und Knollenfäule bei Kartoffel, Braunfäule bei Tomate etc.), *Albugo spec.*
- 10 - Ascomycota wie *Microdochium nivale* (Schneeschiimmel an Roggen und Weizen), *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum* (Ährenfäule v.a. bei Weizen), *Fusarium oxysporum* (*Fusarium*-Welke an Tomate), *Blumeria graminis* (Echter Mehltau an Gerste (f.sp. *hordei*) und Weizen (f.sp. *tritici*)), *Erysiphe pisi* (Erbsenmehltau), *Nectria galligena* (Obstbaumkrebs), *Umicnula necator* (Echter Mehltau der Weinrebe), *Pseudopeziza tracheiphila* (Roter Brenner der Weinrebe), *Claviceps purpurea* (Mutterkorn an z.B. Roggen und Gräsern), *Gaeumannomyces graminis* (Schwarzbeinigkeit an Weizen, Roggen u.a. Gräsern), *Magnaporthe grisea*, *Pyrenophora graminea* (Streifenkrankheit an Gerste), *Pyrenophora teres* (Netzfleckenkrankheit an Gerste), *Pyrenophora tritici-repentis* (Blattfleckenkrankheit (Blattdürre) an Weizen), *Venturia inaequalis* (Apfelschorf), *Sclerotinia sclerotium* (Weißstengeligkeit, Rapskrebs), *Pseudopeziza medicaginis* (Klappenschorf an Luzerne, Weiß- und Rotklee).
- 25 - Basidiomyceten wie *Typhula incarnata* (Typhula-Fäule an Gerste, Roggen, Weizen), *Ustilago maydis* (Beulenbrand an Mais), *Ustilago nuda* (Flugbrand an Gerste), *Ustilago tritici* (Flugbrand an Weizen, Dinkel), *Ustilago avenae* (Flugbrand an Hafer), *Rhizoctonia solani* (Wurzeltöter an Kartoffeln), *Sphacelotheca spp.* (Kolbenbrand bei Sorghum), *Melampsora lini* (Rost bei Flachs), *Puccinia graminis* (Schwarzrost an Weizen, Gerste, Roggen, Hafer), *Puccinia recondita* (Braunrost an Weizen), *Puccinia dispersa* (Braunrost an Roggen), *Puccinia hordei* (Braunrost an Gerste), *Puccinia coronata* (Kronenrost an Hafer), *Puccinia striiformis* (Gelbrost an Weizen, Gerste, Roggen sowie zahlreichen Gräsern), *Uromyces appendiculatus* (Bohnenrost), *Sclerotium rolfsii* (Wurzel- und Stengelfäule bei zahlreichen Pflanzen).

- Deuteromyceten (Fungi imperfecti) wie Septoria (Stagonospora) nodorum (Spelzenbräune) an Weizen (Septoria tritici), Pseudocercospora herpotrichoides (Halmbruchkrankheit an Weizen, Gerste, Roggen),  
 5 Rynchosporium secalis (Blattfleckenkrankheit an Roggen und Gerste), Alternaria solani (Dürrfleckenkrankheit an Kartoffel, Tomate), Phoma betae (Wurzelbrand an Beta-Rübe), Cercospora beticola (Cercospora-Blattfleckenkrankheit an Beta-Rübe), (Alternaria brassicae (Rapsschwärze an Raps, Kohl u.a. Kreuzblütlern), Verticillium dahliae (Rapswelke und -stengelfäule), Colletotrichum lindemuthianum  
 10 (Brennfleckenkrankheit an Bohne), Phoma lingam - Umfallkrankheit (Schwarzbeinigkeitskrankheit an Kohl; Wurzelhals- oder Stengelfäule an Raps), Botrytis cinerea (Grauschimmel an Weinrebe, Erdbeere, Tomate, Hopfen etc.).

Am meisten bevorzugt sind Phytophthora infestans (Kraut- und Knollenfäule, Braunfäule bei Tomate etc.), Microdochium nivale (vormals Fusarium nivale; Schneeschimmel an Roggen und Weizen),  
 20 Fusarium graminearum, Fusarium culmorum, Fusarium avenaceum und Fusarium poae (Ährenfäule an Weizen), Fusarium oxysporum (Fusarium-Welke an Tomate), Magnaporthe grisea (rice blast disease), Sclerotinia sclerotium (Weißstengeligkeit, Rapskrebs), Septoria (Stagonospora) nodorum und Septoria tritici  
 25 (Spelzenbräune an Weizen), Alternaria brassicae (Rapsschwärze an Raps, Kohl u.a. Kreuzblütlern), Phoma lingam (Umfallkrankheit, Schwarzbeinigkeitskrankheit an Kohl; Wurzelhals- oder Stengelfäule an Raps).

## 30 2. Bakterielle Pathogene:

Beispielhaft jedoch nicht einschränkend seien die in Tabelle 5 genannten Pathogene und die mit ihnen in Zusammenhang gebrachten Erkrankungen zu nennen.

35

Tabelle 5: Bakterielle Erkrankungen

Erkrankung	Pathogen
Bacterial leaf blight and stalk rot	Pseudomonas avenae subsp. avenae
Bacterial leaf spot	Xanthomonas campestris pv. holcicola
Bakterielle Stengelfäule	Enterobacter dissolvens = Erwinia dissolvens
Schwarzbeinigkeitskrankheit	Erwinia carotovora subsp.

Erkrankung	Pathogen
("Bacterial stalk and top rot")	carotovora, Erwinia chrysanthemi pv. zeae
Bacterial stripe	Pseudomonas andropogonis
Chocolate spot	Pseudomonas syringae pv. coronafaciens
Goss's bacterial wilt and blight (leaf freckles and wilt)	Clavibacter michiganensis subsp. nebraskensis = Corynebacterium michiganense pv. andnebraskense
Holcus spot	Pseudomonas syringae pv. syringae
Purple leaf sheath	Hemiparasitic bacteria
Seed rot-seedling blight	Bacillus subtilis
Stewart's disease (bacterial wilt)	Pantoea stewartii = Erwinia stewartii
Corn stunt (achapparramiento, maize stunt, Mesa Central or Rio Grande maize stunt)	Spiroplasma kunkelii

- Ganz besonders bevorzugt sind nachfolgende pathogene Bakterien:
- 5 Corynebacterium sepedonicum (Bakterienringfäule an Kartoffel), Erwinia carotovora (Schwarzbeinigkeit an Kartoffel), Erwinia amylovora (Feuerbrand an Birne, Apfel, Quitte), Streptomyces scabies (Kartoffelschorf), Pseudomonas syringae pv. tabaci (Wildfeuer an Tabak), Pseudomonas syringae pv. phaseolicola (Fettfleckenkrankheit an Buschbohne), Pseudomonas syringae pv. tomato ("bacterial speck" an Tomate), Xanthomonas campestris pv. malvacearum (Blattfleckenkrankheit an Baumwolle) und Xanthomonas campestris pv. oryzae (Bakterienfäule an Reis und anderen Gräsern).

### 3. Virale Pathogene:

- 15 "Virale Pathogene" schließt sämtliche Pflanzenviren ein wie beispielsweise Tabak- oder oder Cucumber-Mosaic Virus, Ringspot-Virus, Nekrose-Virus, Mais Dwarf-Mosaic Virus etc.
- 20 Beispielhaft jedoch nicht einschränkend sind die in Tabelle 6 genannten Pathogene und die mit ihnen in Zusammenhang gebrachten Erkrankungen zu nennen.

Tabelle 6: Virale Erkrankungen

Krankheit	Pathogen
American wheat striate (wheat striate mosaic)	American wheat striate mosaic virus (AWSMV)
Barley stripe mosaic	Barley stripe mosaic virus (BSMV)
Barley yellow dwarf	Barley yellow dwarf virus (BYDV)
Brome mosaic	Brome mosaic virus (BMV)
Cereal chlorotic mottle	Cereal chlorotic mottle virus (CCMV)
Corn chlorotic vein banding (Brazilian maize mosaic)	Corn chlorotic vein banding virus (CCVBV)
Corn lethal necrosis	Viruskomplex aus Maize chlorotic mottle virus (MCMV) und Maize dwarf mosaic virus (MDMV) A oder B oder Wheat streak mosaic virus (WSMV)
Cucumber mosaic	Cucumber mosaic virus (CMV)
Cynodon chlorotic streak	Cynodon chlorotic streak virus (CCSV)
Johnsongrass mosaic	Johnsongrass mosaic virus (JGMV)
Maize bushy stunt	Mycoplasma-like organism (MLO) associated
Maize chlorotic dwarf	Maize chlorotic dwarf virus (MCDV)
Maize chlorotic mottle	Maize chlorotic mottle virus (MCMV)
Maize dwarf mosaic	Maize dwarf mosaic virus (MDMV) strains A, D, E and F
Maize leaf fleck	Maize leaf fleck virus (MLFV)
Maize line	Maize line virus (MLV)
Maize mosaic (corn leaf stripe, enanismo rayado)	Maize mosaic virus (MMV)
Maize mottle and chlorotic stunt	Maize mottle and chlorotic stunt virus
Maize pellucid ringspot	Maize pellucid ringspot virus (MPRV)
Maize raya gruesa	Maize raya gruesa virus (MRGV)
maize rayado fino (fine striping disease)	Maize rayado fino virus (MRFV)
Maize red leaf and red stripe	Mollicute
Maize red stripe	Maize red stripe virus (MRSV)
Maize ring mottle	Maize ring mottle virus (MRMV)
Maize rio IV	Maize rio cuarto virus (MRCV)
Maize rough dwarf (enanismo ruvido)	Maize rough dwarf virus (MRDV) (Cereal tillering disease virus)



Krankheit	Pathogen
Maize sterile stunt	Maize sterile stunt virus (strains of barley yellow striate virus)
Maize streak	Maize streak virus (MSV)
Maize stripe (maize chlorotic stripe, maize hoja blanca)	Maize stripe virus
Maize stunting	Maize stunting virus
Maize tassel abortion	Maize tassel abortion virus (MTAV)
Maize vein enation	Maize vein enation virus (MVEV)
Maize wallaby ear	Maize wallaby ear virus (MWEV)
Maize white leaf	Maize white leaf virus
Maize white line mosaic	Maize white line mosaic virus (MWLMV)
Millet red leaf	Millet red leaf virus (MRLV)
Northern cereal mosaic	Northern cereal mosaic virus (NCMV)
Oat pseudorosette (zakuklivanie)	Oat pseudorosette virus
Oat sterile dwarf	Oat sterile dwarf virus (OSDV)
Rice black-streaked dwarf	Rice black-streaked dwarf virus (RBSDV)
Rice stripe	Rice stripe virus (RSV)
Sorghum mosaic	Sorghum mosaic virus (SrMV) (auch: sugarcane mosaic virus (SCMV) Stämme H, I and M)
Sugarcane Fiji disease	Sugarcane Fiji disease virus (FDV)
Sugarcane mosaic	Sugarcane mosaic virus (SCMV) strains A, B, D, E, SC, BC, Sabi and MB (formerly MDMV-B)
Wheat spot mosaic	Wheat spot mosaic virus (WSMV)

#### 4. Tierische Schädlinge.

##### 4.1 Insekten Pathogene:

5

Beispielhaft jedoch nicht einschränkend seien Insekten wie beispielsweise Käfer, Raupen, Läuse oder Milben zu nennen. Bevorzugt sind Insekten der Gattungen Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Mallophaga, Homoptera, Hemiptera, Orthoptera, Thysanoptera. Dermaptera, Isoptera, Anoplura, Siphonaptera, Trichoptera, etc.. Besonders bevorzugt sind Coleoptera and Lepidoptera Insekten, wie beispielsweise den Maiszünsler (European Corn Borer), *Diabrotica barberi*,

10

Diabrotica undecimpunctata, Diabrotica virgifera, Agrotis  
 ipsilon, Crymodes devastator, Feltia ducens, Agrotis gladiaria,  
 Melanotus spp., Aeolus mellillus, Aeolus mancus, Horistonotus  
 uhlerii, Sphenophorus maidis, Sphenophorus zeae, Sphenophorus  
 5 parvulus, Sphenophorus callosus, Phyllogphaga spp., Anuraphis  
 maidiradicis, Delia platura, Colaspis brunnea, Stenolophus  
 lecontei und Clivinia impressifrons.

10 Ferner sind zu nennen: Das Getreidehähnchen (Oulema melanopus),  
 die Fritfliege (Oscinella frit), Drahtwürmer (Agrotis lineatus)  
 und Blattläuse (wie z.B. Haferblattlaus Rhopalosiphum padi,  
 Grosse Getreideblattlaus Sitobion avenae).

#### 4.2 Nematoden:

15 Beispielhaft jedoch nicht einschränkend seien die in Tabelle 7  
 genannten Pathogene und die mit ihnen in Zusammenhang gebrachten  
 Erkrankungen zu nennen.

20 Tabelle 7: Parasitäre Nematoden

Schädigung	Pathogene Nematode
Awl	Dolichodorus spp., D. heterocephalus
Stengel- oder Stockälchen, Rübenkopfälchen	Ditylenchus dipsaci
Burrowing	Radopholus similis
Haferzystenälchen	Heterodera avenae, H. zeae, Punctodera chalcensis
Dagger	Xiphinema spp., X. americanum, X. mediterraneum
False root-knot	Nacobbus dorsalis
Lance, Columbia	Hoplolaimus columbus
Lance	Hoplolaimus spp., H. galeatus
Lesion	Pratylenchus spp., P. brachyurus, P. crenatus, P. hexincisus, P. neglectus, P. penetrans, P. scribneri, P. thornei, P. zeae
Needle	Longidorus spp., L. breviannulatus
Ring	Criconemella spp., C. ornata
Wurzelgallenälchen	Meloidogyne spp., M. chitwoodi, M. incognita, M. javanica
Spiral	Helicotylenchus spp.
Sting	Belonolaimus spp., B. longicaudatus

Schädigung	Pathogene Nematode
Stubby-root	Paratrichodorus spp., P. christiei, P. minor, Quinisulcius acutus, Trichodorus spp.
Stunt	Tylenchorhynchus dubius

Ganz besonders bevorzugt sind Globodera rostochiensis und G. pallida (Zystenälchen an Kartoffel, Tomate u.a. Nachtschattengewächsen), Heterodera schachtii (Rübenzystenälchen an Zucker- und Futterrübe, Raps, Kohl etc.), Heterodera avenae (Haferzystenälchen an Hafer u.a. Getreidearten), Ditylenchus dipsaci (Stengel- oder Stockälchen, Rübenkopfälchen an Roggen, Hafer, Mais, Klee, Tabak, Rübe), Anguina tritici (Weizenälchen, Radekrankheit an Weizen (Dinkel, Roggen), Meloidogyne hapla (Wurzelgallenälchen an Möhre, Gurke, Salat, Tomate, Kartoffel, Zuckerrübe, Luzerne).

Als für die einzelnen Sorten bevorzugte Pilz- oder Virus-Pathogene sind beispielsweise zu nennen:

#### 1. Gerste:

Pilz-, bakterielle und virale Pathogene: Puccinia graminis f.sp. hordei, Blumeria (Erysiphe) graminis f.sp. hordei, barley yellow dwarf virus (BYDV),

Pathogene Insekten / Nematoden: Ostrinia nubilalis (European corn borer); Agrotis ipsilon; Schizaphis graminum; Blissus leucopterus leucopterus; Acrosternum hilare; Euschistus servus; Delia platura; Mayetiola destructor; Petrobia latens.

#### 2. Sojabohne:

Pilz-, bakterielle oder virale Pathogene: Phytophthora megasperma f.sp. glycinea, Macrophomina phaseolina, Rhizoctonia solani, Sclerotinia sclerotiorum, Fusarium oxysporum, Diaporthe phaseolorum var. sojae (Phomopsis sojae), Diaporthe phaseolorum var. caulivora, Sclerotium rolfsii, Cercospora kikuchii, Cercospora sojae, Peronospora manshurica, Colletotrichum dematium (Colletotrichum truncatum), Corynespora cassiicola, Septoria glycines, Phyllosticta sojicola, Alternaria alternata, Pseudomonas syringae p.v. glycinea, Xanthomonas campestris p.v. phaseoli, Microsphaera diffusa, Fusarium semitectum,

## 23

Phialophora gregata, Sojabohnen Mosaikvirus, Glomerella  
glycines, Tobacco Ring spot virus, Tobacco Streak virus,  
Phakopsorapachyrhizi, Pythium aphanidermatum, Pythium ultimum,  
Pythium debaryanum, Tomato spotted wilt virus, Heterodera  
5 glycines Fusarium solani.

Pathogene Insekten / Nematoden: Pseudoplusia includens;  
Anticarsia gemmatilis; Plathypena scabra; Ostrinia nubilalis;  
Agrotis ipsilon; Spodoptera exigua; Heliothis virescens;  
10 Helicoverpa zea; Epilachna varivestis; Myzus persicae; Empoasca  
fabae; Acrosternum hilare; Melanoplus femurrubrum; Melanoplus  
differentialis; Hylemya platura; Sericothrips variabilis; Thrips  
tabaci; Tetranychus turkestanii; Tetranychus urticae;

## 15 3. Raps:

Pilz-, bakterielle oder virale Pathogene: Albugo candida,  
Alternaria brassicae, Leptosphaeria maculans, Rhizoctonia  
solani, Sclerotinia sclerotiorum, Mycosphaerella brassicicola,  
20 Pythium ultimum, Peronospora parasitica, Fusarium roseum,  
Alternaria alternata.

## 4. Alfalfa:

25 Pilz-, bakterielle oder virale Pathogene: Clavibacter  
michiganense subsp. insidiosum, Pythium ultimum, Pythium  
irregulare, Pythium splendens, Pythium debaryanum, Pythium  
aphanidermatum, Phytophthora megasperma, Peronospora  
trifoliorum, Phoma medicaginis var. medicaginis, Cercospora  
30 medicaginis, Pseudopeziza medicaginis, Leptotrochila  
medicaginis, Fusarium, Xanthomonas campestris p.v. alfalfae,  
Aphanomyces euteiches, Stemphylium herbarum, Stemphylium  
alfalfae.

## 35 5. Weizen:

Pilz-, bakterielle oder virale Pathogene: Pseudomonas syringae  
p.v. atrofaciens, Urocystis agropyri, Xanthomonas campestris  
p.v. translucens, Pseudomonas syringae p.v. syringae, Alternaria  
40 alternata, Cladosporium herbarum, Fusarium graminearum, Fusarium  
avenaceum, Fusarium culmorum, Ustilago tritici, Ascochyta  
tritici, Cephalosporium gramineum, Collotetrachum graminicola,  
Erysiphe graminis f.sp. tritici, Puccinia graminis f.sp.  
tritici, Puccinia recondita f.sp. tritici, Puccinia striiformis,

## 24

Pyrenophora tritici-repentis, Septoria (Stagonospora) nodorum, Septoria tritici, Septoria avenae, Pseudocercospora herpotrichoides, Rhizoctonia solani, Rhizoctonia cerealis, Gaeumannomyces graminis var. tritici, Pythium aphanidermatum, 5 Pythium arrhenomanes, Pythium ultimum, Bipolaris sorokiniana, Barley Yellow Dwarf Virus, Brome Mosaic Virus, Soil Borne Wheat Mosaic Virus, Wheat Streak Mosaic Virus, Wheat Spindle Streak Virus, American Wheat Striate Virus, Claviceps purpurea, Tilletia tritici, Tilletia laevis, Ustilago tritici, Tilletia 10 indica, Rhizoctonia solani, Pythium arrhenomanes, Pythium graminicola, Pythium aphanidermatum, High Plains Virus, European Wheat Striate Virus, Puccinia graminis f.sp. tritici (Wheat stem rust), Blumeria (Erysiphe) graminis f.sp. tritici (Wheat Powdery Mildew)

15 Pathogene Insekten / Nematoden: Pseudaletia unipunctata; Spodoptera frugiperda; Elasmopalpus lignosellus; Agrotis orthogonia; Elasmopalpus lignosellus; Oulema melanopus; Hypera punctata; Diabrotica undecimpunctata howardi; Russian wheat 20 aphid; Schizaphis graminum; Macrosiphum avenae; Melanoplus femurrubrum; Melanoplus differentialis; Melanoplus sanguinipes; Mayetiola destructor; Sitodiplosis mosellana; Meromyza americana; Hylemya coarctata; Frankliniella fusca; Cephus cinctus; Aceria tulipae;

25

## 6. Sonnenblume:

Pilz-, bakterielle oder virale Pathogene: Plasmophora halstedii, Sclerotinia sclerotiorum, Aster Yellows, Septoria helianthi, 30 Phomopsis helianthi, Alternaria helianthi, Alternaria zinniae, Botrytis cinerea, Phoma macdonaldii, Macrophomina phaseolina, Erysiphe cichoracearum, Rhizopus oryzae, Rhizopus arrhizus, Rhizopus stolonifer, Puccinia helianthi, Verticillium dahliae, Erwinia carotovorum p.v. Carotovora, Cephalosporium acremonium, 35 Phytophthora cryptogea, Albugo tragopogonis.

Pathogene Insekten / Nematoden: Suleima helianthana; Homoeosoma electellum; zygogramma exclamationis; Bothyrus gibbosus; Neolasioptera murtfeldtiana;

40

## 7. Mais:

Pilz-, bakterielle oder virale Pathogene: Fusarium moniliforme var. subglutinans, Erwinia stewartii, Fusarium moniliforme,

## 25

- Gibberella zeae (*Fusarium graminearum*), *Stenocarpella maydis* (*Diplodia maydis*), *Pythium irregulare*, *Pythium debaryanum*, *Pythium graminicola*, *Pythium splendens*, *Pythium ultimum*, *Pythium aphanidermatum*, *Aspergillus flavus*, *Bipolaris maydis* 0, T
- 5 (*Cochliobolus heterostrophus*), *Helminthosporium carbonum* I, II & III (*Cochliobolus carbonum*), *Exserohilum turcicum* I, II & III, *Helminthosporium pedicellatum*, *Physoderma maydis*, *Phyllosticta maydis*, *Kabatiella maydis*, *Cercospora sorghi*, *Ustilago maydis*, *Puccinia sorghi*, *Puccinia polysora*, *Macrophomina phaseolina*,
- 10 *Penicillium oxalicum*, *Nigrospora oryzae*, *Cladosporium herbarum*, *Curvularia lunata*, *Curvularia inaequalis*, *Curvularia pallescens*, *Clavibacter michiganense* subsp. *nebraskense*, *Trichoderma viride*, *Maize Dwarf Mosaic Virus A & B*, *Wheat Streak Mosaic Virus*, *Maize Chlorotic Dwarf Virus*, *Claviceps sorghi*, *Pseudonomas avenae*,
- 15 *Erwinia chrysanthemi* p.v. *Zea*, *Erwinia corotovora*, *Corn stunt spiroplasma*, *Diplodia macrospora*, *Sclerophthora macrospora*, *Peronosclerospora sorghi*, *Peronosclerospora philippinensis*, *Peronosclerospora maydis*, *Peronosclerospora sacchari*, *Spacelotheca reiliana*, *Physopella zeae*, *Cephalosporium maydis*,
- 20 *Cephalosporium acremonium*, *Maize Chlorotic Mottle Virus*, *High Plains Virus*, *Maize Mosaic Virus*, *Maize Rayado Fino Virus*, *Maize Streak Virus (MSV, Maisstrichel-Virus)*, *Maize Stripe Virus*, *Maize Rough Dwarf Virus*.
- 25 Pathogene Insekten / Nematoden: *Ostrinia nubilalis*; *Agrotis ipsilon*; *Helicoverpa zea*; *Spodoptera frugiperda*; *Diatraea grandiosella*; *Elasmopalpus lignosellus*; *Diatraea saccharalis*; *Diabrotica virgifera*; *Diabrotica longicornis barberi*; *Diabrotica undecimpunctata howardi*; *Melanotus* spp.; *Cyclocephala borealis*;
- 30 *Cyclocephala immaculata*; *Popillia japonica*; *Chaetocnema pulicaria*; *Sphenophorus maidis*; *Rhopalosiphum maidis*; *Anuraphis maidiradicis*; *Blissus leucopterus leucopterus*; *Melanoplus femurrubrum*; *Melanoplus sanguinipes*; *Hylemya platura*; *Agromyza parvicornis*; *Anaphothrips obscurus*; *Solenopsis milesta*;
- 35 *Tetranychus urticae*.

## 8. Sorghum:

- 40 Pilz-, bakterielle oder virale Pathogene: *Exserohilum turcicum*, *Colletotrichum graminicola* (*Glomerella graminicola*), *Cercospora sorghi*, *Gloeocercospora sorghi*, *Ascochyta sorghina*, *Pseudomonas syringae* p.v. *syringae*, *Xanthomonas campestris* p.v. *holcicola*, *Pseudomonas andropogonis*, *Puccinia purpurea*, *Macrophomina phaseolina*, *Perconia circinata*, *Fusarium moniliforme*, *Alternaria*

## 26

alternate, *Bipolaris sorghicola*, *Helminthosporium sorghicola*,  
*Curvularia lunata*, *Phoma insidiosa*, *Pseudomonas avenae*  
(*Pseudomonas alboprecipitans*), *Ramulispora sorghi*, *Ramulispora*  
5 *sorghicola*, *Phyllachara sacchari*, *Sporisorium reilianum*  
(*Sphacelotheca reiliana*), *Sphacelotheca cruenta*, *Sporisorium*  
*sorghii*, Sugarcane mosaic H, Maize Dwarf Mosaic Virus A & B,  
*Claviceps sorghi*, *Rhizoctonia solani*, *Acremonium strictum*,  
*Sclerophthora macrospora*, *Peronosclerospora sorghi*,  
*Peronosclerospora philippinensis*, *Sclerospora graminicola*,  
10 *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium arrhenomanes*,  
*Pythium graminicola*.

Pathogene Insekten / Nematoden: *Chilo partellus*; *Spodoptera*  
*frugiperda*; *Helicoverpa zea*; *Elasmopalpus lignosellus*; *Feltia*  
15 *subterranea*; *Phyllophaga crinita*; *Eleodes*, *Conoderus* und *Aeolus*  
*spp.*; *Oulema melanopus*; *Chaetocnema pulicaria*; *Sphenophorus*  
*maidis*; *Rhopalosiphum maidis*; *Siphaflava*; *Blissus leucopterus*  
*leucopterus*; *Contarinia sorghicola*; *Tetranychus cinnabarinus*;  
*Tetranychus urticae*.

20

## 9. Baumwolle:

Pathogene Insekten / Nematoden: *Heliothis virescens*; *Helicoverpa*  
*zea*; *Spodoptera exigua*; *Pectinophora gossypiella*; *Anthonomus*  
25 *grandis grandis*; *Aphis gossypii*; *Pseudatomoscelis seriatus*;  
*Trialeurodes abutilonea*; *Lygus lineolaris*; *Melanoplus*  
*femurrubrum*; *Melanoplus differentialis*; *Thrips tabaci* (onion  
thrips); *Frankliniella fusca*; *Tetranychus cinnabarinus*;  
*Tetranychus urticae*;

30

## 10. Reis:

Pathogene Insekten / Nematoden: *Diatraea saccharalis*; *Spodoptera*  
*frugiperda*; *Helicoverpa zea*; *Colaspis brunnea*; *Lissorhoptrus*  
35 *oryzophilus*; *Sitophilus oryzae*; *Nephotettix nigropictus*; *Blissus*  
*leucopterus leucopterus*; *Acrosternum hilare*.

## 11. Raps:

40 Pathogene Insekten / Nematoden: *Brevicoryne brassicae*;  
*Phyllotreta cruciferae*; *Mamestra conjugata*; *Plutella*  
*xylostella*; *Delia ssp.*

## 27

"BI1-Protein" meint im Rahmen der Erfindung Polypeptide die mindestens eine Sequenz die eine Homologie von mindestens 50%, bevorzugt mindestens 80%, besonders bevorzugt mindestens 90%, ganz besonders bevorzugt 100% aufweisen zu einem BI1-

5 Konsensusmotiv ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus

- a) H(L/I)KXVY
- b) AXGA(Y/F)XH
- c) NIGG
- 10 d) P(V/P)(Y/F)E(E/Q)(R/Q)KR
- e) (E/Q)G(A/S)S(V/I)GPL
- f) DP(S/G)(L/I)(I/L)
- g) V(G/A)T(A/S)(L/I)AF(A/G)CF(S/T)
- h) YL(Y/F)LGG, bevorzugt EYLYLGG
- 15 i) L(L/V)SS(G/W)L(S/T)(I/M)L(L/M)W
- j) DTGX(I/V)(I/V)E

Besonders bevorzugt ist dabei das BI- Konsensusmotiv f) YL(Y/F)LGG, ganz besonders bevorzugt (EYLYLGG). Dieses Motiv ist  
20 charakteristisch für pflanzliche BI1-Proteine.

Besonders bevorzugt kommen Sequenzen mit Homologie zu mindestens 2 oder 3 dieser Motive (a bis g) in einem BI1-Protein vor, ganz besonders bevorzugt mindestens 4 oder 5, am meisten bevorzugt  
25 alle Motive a bis j. Weitere BI1 typischen Sequenzmotive kann der Fachmann unschwer aus dem Sequenzvergleich von BI1-Proteine - wie in Fig. 1 oder 6 dargestellt - ableiten.

Insbesondere bevorzugt sind BI-Proteine, die kodiert werden  
30 durch ein Polypeptid das mindestens eine Sequenz umfaßt ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

- a) den Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 und 32, und
- 35 b) Sequenzen, die eine Identität von mindestens 50%, bevorzugt mindestens 70%, besonders bevorzugt mindestens 90%, ganz besonders bevorzugt mindestens 95% zu einer der Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 und 32 aufweisen,
- 40 c) Sequenzen die mindestens eine Teilsequenz von mindestens 10, bevorzugt 20, besonders bevorzugt 50 zusammenhängenden Aminosäureresten einer der Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 2, 4,



6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 und 32  
umfassen.

- 5 Erfindungsgemäß von dem Begriff BI-Protein umfaßt sind insbesondere natürliche oder künstliche Mutationen der BI1-Polypeptide gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8 und 10 sowie homologe Polypeptide aus anderen Organismen, bevorzugt Pflanzen, welche weiterhin im wesentlichen gleiche Eigenschaften aufweisen.
- 10 Mutationen umfassen Substitutionen, Additionen, Deletionen, Inversion oder Insertionen eines oder mehrerer Aminosäurereste. Umfaßt sind insofern auch Ausführungsformen unter Verwendung von BI1-Proteinen aus nicht-pflanzlichen Organismen wie beispielsweise Mensch (GenBank Acc.-No.: P55061), Ratte (GenBank Acc.-No.: P55062) oder Drosophila (GenBank Acc.-No.: Q9VSH3).
- 15 Zwischen pflanzlichen und nicht-pflanzlichen BI1-Proteinen konservierte Motive können durch Sequenzvergleiche leicht identifiziert werden (vgl. Alignment in Bolduc et al. (2003) Planta 216:377-386; Fig. 1 und 6).
- 20 Somit werden beispielsweise auch solche Polypeptide durch die vorliegende Erfindung mit umfaßt, welche man durch Modifikation eines Polypeptides gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8 und 10 erhält.
- Die zu den im Rahmen dieser Erfindung offenbarten BI1-Sequenzen homologen Sequenzen aus anderen Pflanzen können z.B. durch
- 25 a) Datenbanksuche in Banken von Organismen, deren genomische oder cDNA Sequenz ganz oder teilweise bekannt ist, unter Verwendung der bereitgestellten BI1-Sequenzen als Suchsequenz oder
- 30 b) Durchmustern von Gen- oder cDNA-Bibliotheken unter Verwendung der bereitgestellten BI1-Sequenzen als Sonde -
- 35 aufgefunden werden. Die Durchmusterung von cDNA- oder genomischen Bibliotheken (beispielsweise unter Verwendung einer der unter SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 und 31 beschriebene Nukleinsäuresequenzen oder Teilen derselben als Sonde), ist ein dem Fachmann geläufiges Verfahren,
- 40 um Homologe in anderen Arten zu identifizieren. Dabei haben die von den Nukleinsäuresequenzen gemäß SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 und 31 abgeleiteten Sonden eine Länge von mindestens 20 bp, bevorzugt mindestens 50 bp, besonders bevorzugt mindestens 100 bp, ganz besonders

## 29

bevorzugt mindestens 200 bp, am meisten bevorzugt mindestens 400 bp. Für die Durchmusterung der Bibliotheken kann auch ein zu den unter SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 und 31 37 beschriebenen Sequenzen komplementärer DNA-Strang eingesetzt werden.

Unter Homologie zwischen zwei Nukleinsäuresequenzen wird die Identität der Nukleinsäuresequenz über die jeweils gesamte Sequenzlänge verstanden, die durch Vergleich mit Hilfe des Programmalgorithmus GAP (Wisconsin Package Version 10.0, University of Wisconsin, Genetics Computer Group (GCG), Madison, USA; Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389ff) unter Einstellung folgender Parameter berechnet wird:

Gap Weight: 50	Length Weight: 3
Average Match: 10	Average Mismatch: 0

Beispielhaft wird unter einer Sequenz, die eine Homologie von mindestens 80 % auf Nukleinsäurebasis mit der Sequenz SEQ ID NO: 1 aufweist, eine Sequenz verstanden, die bei einem Vergleich mit der Sequenz SEQ ID NO: 1 nach obigem Programmalgorithmus mit obigem Parametersatz eine Homologie von mindestens 80 % aufweist.

Unter Homologie zwischen zwei Polypeptiden wird die Identität der Aminosäuresequenz über die jeweils gesamte Sequenzlänge verstanden, die durch Vergleich mit Hilfe des Programmalgorithmus GAP (Wisconsin Package Version 10.0, University of Wisconsin, Genetics Computer Group (GCG), Madison, USA) unter Einstellung folgender Parameter berechnet wird:

Gap Weight: 8	Length Weight: 2
Average Match: 2,912	Average Mismatch: -2,003

Beispielhaft wird unter einer Sequenz, die eine Homologie von mindestens 80 % auf Proteinbasis mit der Sequenz SEQ ID NO: 2 aufweist, eine Sequenz verstanden, die bei einem Vergleich mit der Sequenz SEQ ID NO: 2 nach obigem Programmalgorithmus mit obigem Parametersatz eine Homologie von mindestens 80 % aufweist.

BI1-Proteine umfassen auch solche Polypeptide die durch Nukleinsäuresequenzen kodiert werden, die unter Standardbedingungen mit einer der durch SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 beschriebenen BI1 Nukleinsäuresequenz, der zu ihr komplementären Nukleinsäuresequenz oder Teilen der vorgenannten hybridisieren und die gleichen wesentlichen Eigenschaften wie die unter SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8 und 10 beschriebenen Proteine haben.

- 10 Der Begriff "Standardhybridisierungsbedingungen" ist breit zu verstehen und meint stringente als auch weniger stringente Hybridisierungsbedingungen. Solche Hybridisierungsbedingungen sind unter anderem bei Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T et al., in Molecular Cloning (A Laboratory Manual), 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Seiten 9.31-9.57) oder in Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. beschrieben. Beispielfhaft können die Bedingungen während des Waschschrilles ausgewählt sein aus dem Bereich von Bedingungen begrenzt von solchen mit geringer Stringenz (mit ungefähr 2X SSC bei 50°C) und solchen mit hoher Stringenz (mit ungefähr 0.2X SSC bei 50°C bevorzugt bei 65°C) (20X SSC: 0,3M Natriumcitrat, 3M NaCl, pH 7.0). Darüber hinaus kann die Temperatur während des Waschschrilles von niedrig stringenten Bedingungen bei Raumtemperatur, ungefähr 22°C, bis zu stärker stringenten Bedingungen bei ungefähr 65°C angehoben werden. Beide Parameter, Salzkonzentration und Temperatur, können gleichzeitig variiert werden, auch kann einer der beiden Parameter konstant gehalten und nur der andere variiert werden. Während der Hybridisierung können auch denaturierende Agenzien wie zum Beispiel Formamid oder SDS eingesetzt werden. In Gegenwart von 50% Formamid wird die Hybridisierung bevorzugt bei 42°C ausgeführt.

35 "Wesentliche Eigenschaften" meint in Bezug auf ein BI-Protein beispielsweise eine oder mehr nachfolgender Eigenschaften:

- 40 a) Verleihung oder Steigerung der Pathogenresistenz gegen zumindest ein Pathogen bei Erhöhung Proteinmenge oder Funktion des besagten BI-Proteins in mindestens einem Gewebe der Pflanze, wobei besagtes Gewebe nicht die Blattepidermis ist.
- b) Ausbleiben eines spontan-induzierten Zelltodes bei Erhöhung der Proteinmenge oder Funktion des besagten BI-Proteins

c) Die Eigenschaft bei transienter co-Transfektion von Bax mit besagtem B11-Protein beispielsweise in HEK293 Zellen die BAX-induzierte Apoptose signifikant zu inhibieren. Entsprechende Verfahren sind beschrieben (Bolduc N et al. (2003) Planta 216:377-386).

d) Das Vorliegen von fünf bis sieben putativen Transmembrandomänen innerhalb der besagten B11-Proteins.

e) Eine präferentielle Lokalisation in Zellmembranen, insbesondere der Kernhüll-, ER- und/oder Thylakoidmembran.

Dabei kann die quantitative Ausprägung besagter Eigenschaften eines B11-Proteins nach unten als auch nach oben im Vergleich zu einem Wert erhalten für das B11-Protein gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8 oder 10 abweichen.

Der Begriff "Erhöhung der B11 Proteinmenge oder Funktion" ist im Rahmen dieser Erfindung breit zu verstehen und kann auf unterschiedlichen zellbiologischen Mechanismen beruhen.

"Proteinmenge" meint die Menge eines B11-Proteins in dem jeweils angegebenen Organismus, Gewebe, Zelle oder Zellkompartiment.

"Erhöhung der Proteinmenge" meint die mengenmäßige Erhöhung der Menge eines B11-Proteins in dem jeweils angegebenen Organismus, Gewebe, Zelle oder Zellkompartiment. - beispielsweise durch eines der unten beschriebenen Verfahren - im Vergleich zu dem Wildtyp derselben Gattung und Art auf den dieses Verfahren nicht angewendet wurde, aber unter ansonst gleichen Rahmenbedingungen (wie beispielsweise Kulturbedingungen, Alter der Pflanzen etc.). Die Erhöhung beträgt dabei mindestens 10 %, bevorzugt mindestens 30 % oder mindestens 50 %, besonders bevorzugt mindestens 70 % oder 100 %, ganz besonders bevorzugt um mindestens 200 % oder 500 %, am meisten bevorzugt um mindestens 1000 %. Die Bestimmung der Proteinmenge kann durch verschiedene dem Fachmann geläufige Verfahren erfolgen. Beispielhaft jedoch nicht einschränkend seien zu nennen: Das Mikro-Biuret Verfahren (Goa J (1953) Scand J Clin Lab Invest 5:218-222), die Folin-Ciocalteu-Methode (Lowry OH et al. (1951) J Biol Chem 193:265-275) oder die Messung der Adsorption von CBB G-250 (Bradford MM (1976) Analyt Biochem 72:248-254). Ferner kann eine Quantifizierung über immunologische Methoden wie beispielsweise Western-Blot

- erfolgen. Die Herstellung entsprechender BII-Antikörper sowie die Durchführung von BII-Western-Blots ist beschrieben (Bolduc et al. (2002) FEBS Lett 532:111-114). Eine indirekte Quantifizierung kann über Northern-Blots realisiert werden, wobei die mRNA Menge in der Regel gut mit der resultierenden Proteinmenge korreliert. Entsprechende Verfahren sind beschrieben (u.a. Bolduc et al. (2003) Planta 216:377-386; Matsumura H et al. (2003) Plant J 33:425-434).
- 10 "Funktion" meint bevorzugt die Eigenschaft eines BII-Proteins den spontan-induzierten Zelltodes zu vermindern und/oder die Eigenschaft, die apoptose-indizierende Wirkung von Bax zu inhibieren. Entsprechende Funktionen zählen zu den wesentlichen Eigenschaft eines BII-Proteins.
- 15 "Erhöhung" der Funktion meint im Rahmen dieser Erfindung beispielsweise die mengenmäßige Steigerung der inhibitorischen Wirkung auf den Bax-induzierten apoptotischen Zelltod, welche durch dem Fachmann geläufige Verfahren quantifiziert werden kann
- 20 (s.o.) Der Erhöhung beträgt dabei mindestens 10 %, bevorzugt mindestens 30 % oder mindestens 50 %, besonders bevorzugt mindestens 70 % oder 100 %, ganz besonders bevorzugt um mindestens 200 % oder 500 %, am meisten bevorzugt um mindestens 1000 %. Verfahren zur Erhöhung der Funktion umfassen neben den
- 25 oben beschriebenen Verfahren zur Erhöhung der Proteinmenge (die auch immer die Funktion erhöht) ferner beispielhaft - jedoch nicht einschränkend - insbesondere das Einführen von Mutationen in ein BII-Protein.
- 30 Die BII-Proteinmenge kann beispielhaft jedoch nicht einschränkend durch eines der nachfolgenden Verfahren erhöht werden:
- 35 a) Rekombinante Expression oder Überexpression eines BII-Proteins durch Einringen einer rekombinanten Expressionskassette umfassend eine Nukleinsäuresequenz kodierend für ein BII-Protein unter Kontrolle eines gewebespezifischen Promotors, wobei besagter Promotor im wesentlichen keine Aktivität in der Blattepidermis aufweist.
- 40 b) Modifikation (z.B. Austausch) der regulatorischen Regionen (z.B. der Promotorregion) eines endogenen BII-Gens beispielsweise Austausch gegen einen gewebespezifischen Promotor mittels homologer Rekombination, wobei besagter

Promotor im wesentlichen keine Aktivität in der Blattepidermis aufweist.

- 5 c) Insertion einer Nukleinsäuresequenz kodierend für ein BII-Protein in das pflanzliche Genom hinter einen gewebespezifischen Promotor mittels homologer Rekombination, wobei besagter Promotor im wesentlichen keine Aktivität in der Blattepidermis aufweist.
- 10 d) Erhöhung der Expression eines endogenen BII-Proteins durch Einbringen eines Transkriptionsfaktors (z.B. eines artifiziellen Transkriptionsfaktors aus der Klasse der Zinkfingerproteine) geeignet zur Induktion der Expression besagten BII-Proteins. Bevorzugt ist das Einringen einer
- 15 rekombinanten Expressionskassette umfassend eine Nukleinsäuresequenz kodierend für besagten Transkriptionsfaktor unter Kontrolle eines gewebespezifischen Promotors, wobei besagter Promotor im wesentlichen keine Aktivität in der Blattepidermis aufweist.

20

Der Begriff "Einbringen" umfaßt im Rahmen der Erfindung allgemein alle Verfahren, die dazu geeignet die einzubringende Verbindung, direkt oder indirekt, in eine Pflanze oder eine Zelle, Kompartiment, Gewebe, Organ oder Samen derselben

25 einzuführen oder dort zu generieren. Direkte und indirekte Verfahren sind umfaßt. Die Einbringen kann zu einer vorübergehenden (transienten) Präsenz besagter Verbindung führen oder aber auch zu einer dauerhaften (stabilen) oder induzierbaren. Einführen umfaßt beispielsweise Verfahren wie

30 Transfektion, Transduktion oder Transformation.

In den im Rahmen der Erfindung zum Einsatz kommenden rekombinanten Expressionskassetten steht ein Nukleinsäuremolekül (beispielsweise kodierend für ein BII-Protein) in funktioneller

35 Verknüpfung mit mindestens einem gewebespezifischen Promotor, wobei besagter Promotor im wesentlichen keine Aktivität in der Blattepidermis aufweist und wobei der Promotor in Bezug auf die zu exprimierende Nukleinsäuresequenz heterolog ist d.h. natürlicherweise nicht mit derselben kombiniert vorkommt. Die

40 erfindungsgemäßen rekombinanten Expressionskassetten können optional weitere genetische Kontrollelement umfassen.

Unter einer funktionellen Verknüpfung versteht man zum Beispiel die sequentielle Anordnung des besagten Promotors mit der zu

- exprimierenden Nukleinsäuresequenz und ggf. weiterer regulativer Elemente wie zum Beispiel einem Terminator derart, dass jedes der regulativen Elemente seine Funktion bei der rekombinanten Expression der Nukleinsäuresequenz erfüllen kann. Dazu ist nicht unbedingt eine direkte Verknüpfung im chemischen Sinne erforderlich. Genetische Kontrollsequenzen, wie zum Beispiel Enhancer-Sequenzen, können ihre Funktion auch von weiter entfernten Positionen oder gar von anderen DNA-Molekülen aus auf die Zielsequenz ausüben. Bevorzugt sind Anordnungen, in denen die rekombinant zu exprimierende Nukleinsäuresequenz hinter der als Promoter fungierenden Sequenz positioniert wird, so dass beide Sequenzen kovalent miteinander verbunden sind. Bevorzugt ist dabei der Abstand zwischen der Promotorsequenz und der rekombinant zu exprimierende Nukleinsäuresequenz geringer als 200 Basenpaare, besonders bevorzugt kleiner als 100 Basenpaare, ganz besonders bevorzugt kleiner als 50 Basenpaare. Die Herstellung einer funktionellen Verknüpfung als auch die Herstellung einer rekombinanten Expressionskassette kann mittels gängiger Rekombinations- und Klonierungstechniken realisiert werden, wie sie beispielsweise in Maniatis T, Fritsch EF und Sambrook J (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (NY), in Silhavy TJ, Berman ML und Enquist LW (1984) Experiments with Gene Fusions, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (NY), in Ausubel FM et al. (1987) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience und bei Gelvin et al. (1990) In: Plant Molecular Biology Manual beschrieben sind. Zwischen beide Sequenzen können aber auch weitere Sequenzen positioniert werden, die zum Beispiel die Funktion eines Linkers mit bestimmten Restriktionsenzymchnittstellen oder eines Signalpeptides haben. Auch kann die Insertion von Sequenzen zur Expression von Fusionsproteinen führen.
- Bevorzugt kann die rekombinante Expressionskassette, bestehend aus einer Verknüpfung von Promoter und zu exprimierender Nukleinsäuresequenz, integriert in einem Vektor vorliegen und durch zum Beispiel Transformation in ein pflanzliches Genom insertiert werden.
- Unter einer rekombinanten Expressionskassette sind aber auch solche Konstruktionen zu verstehen, bei denen der Promoter - zum Beispiel durch eine homologe Rekombination - vor ein endogenes B11-Gen plaziert wird, und so die Expression des B11-Proteins

steuert. Analog kann auch die zu exprimierende Nukleinsäuresequenz (z.B. kodierend für ein B11-Protein) derart hinter einen endogenen Promotor plaziert werden, dass der gleiche Effekt auftritt. Beide Ansätze führen zu rekombinanten Expressionskassetten im Sinne der Erfindung.

Unter einem "gewebespezifischen Promotor, der im wesentlichen keine Aktivität in der Blattepidermis aufweist" sind im Rahmen dieser Erfindung allgemein solche Promotoren zu verstehen, die geeignet sind eine rekombinante Expression einer Nukleinsäuresequenz mindestens in einem pflanzlichen Gewebe zu gewährleisten oder zu erhöhen, mit der Maßgabe, dass

- a) besagtes pflanzliches Gewebe ausgewählt ist aus allen pflanzlichen Geweben mit Ausnahme der Blattepidermis, und
- b) die rekombinante Expression unter Kontrolle des besagten Promotors in besagtem pflanzlichen Gewebe mindestens das fünffache, bevorzugt mindestens das zehnfache, besonders bevorzugt mindestens das einhundertfache der Expression in der pflanzlichen Blattepidermis beträgt.

Dem Fachmann sind zahlreiche Promotoren bekannt, die diesen Anforderungen genügen. Insbesondere geeignet sind gewebespezifische Promotoren, wie beispielsweise, jedoch nicht einschränkend Promotoren mit Spezifitäten für die Antheren, Ovarien, Blüten, Stengel, Wurzeln, Knollen oder Samen.

- a) Als Samen spezifische Promotoren bevorzugt sind zum Beispiel die Promotoren des Phaseolins (US 5,504,200; Bustos MM et al. (1989) Plant Cell 1(9):839-53), 2S Albumins (Joseffson LG et al. (1987) J Biol Chem 262:12196-12201), Legumins (Shirsat A et al. (1989) Mol Gen Genet 215(2):326-331) und Legumin B4 (LeB4; Baumlein H et al. (1991) Mol Gen Genet 225:121-128; Baumlein H et al. (1992) Plant J 2(2):233-9; Fiedler U et al. (1995) Biotechnology (NY) 13(10):1090f), USP (unknown seed protein; Baumlein H et al. (1991) Mol Gen Genet 225(3):459-67), Napins (US 5,608,152; Stalberg K et al. (1996) L Planta 199:515-519), Saccharosebindeproteins (WO 00/26388), Oleosins (WO 98/45461), oder der Bce4-Promoter aus Brassica (WO 91/13980). Weitere geeignete samenspezifische Promotoren sind die der Gene kodierend für das "High Molecular Weight Glutenin" (HMWG), Gliadin, Verzweigungsenzym, ADP Glucose Pyrophosphatase (AGPase) oder



die Stärkesynthese. Bevorzugt sind ferner Promotoren, die eine samenspezifische Expression in Monokotyledonen wie Mais, Gerste, Weizen, Roggen, Reis etc. erlauben. Vorteilhaft eingesetzt werden können der Promoter des lpt2 oder lpt1-Gen (WO 95/15389, WO 95/23230) oder die Promotoren beschrieben in WO 99/16890 (Promotoren des Hordein-Gens, des Glutelin-Gens, des Oryzin-Gens, des Prolamin-Gens, des Gliadin-Gens, des Glutelin-Gens, des Zein-Gens, des Kasirin-Gens oder des Secalin-Gens). Weitere samenspezifische Promotoren sind beschrieben in WO 89/03887.

- b) Knollen-, Speicherwurzel- oder Wurzel-spezifische Promotoren umfassen beispielsweise den Promotor des Patatin Gens (GenBank Acc.-No.: A08215), den Patatin Promotor Klasse I B33-Promotor (GenBank Acc.-No.: X14483) oder den Promotor des Cathepsin D Inhibitors aus Kartoffel. Insbesondere bevorzugt ist der Promotor beschrieben durch SEQ ID NO: 29. Knollen-spezifische Promotoren sind im Rahmen der Erfindung insbesondere zum Erzielen einer Resistenz gegen *Phytophthora infestans* geeignet. Da obligat-biotrophe Pilze nur Blätter befallen, ist eine Aktivität im epidermalen Knollengewebe unerheblich.
- c) Blütenspezifische Promotoren umfassen beispielsweise den Phytoen Synthase Promotor (WO 92/16635) oder den Promotor des P-rr Gens (WO 98/22593).
- d) Antheren-spezifische Promotoren umfassen beispielsweise den 5126-Promotor (US 5,689,049, US 5,689,051), den glob-1 Promotor und den  $\gamma$ -Zein Promotor.
- e) Ährenspezifische Promotoren, wie beispielsweise der in US 6,291,666. Ähren-spezifische Promotoren sind insbesondere zur Vermittlung einer Resistenz gegen *Fusarium* vorteilhaft.
- f) Mesophyll-spezifische Promotoren wie beispielsweise der Promotor des Weizen Germin 9f-3.8 Gens (GenBank Acc.-No.: M63224) oder der Gerste GerA Promotor (WO 02/057412). Besagte Promotoren sind insbesondere vorteilhaft, da sie sowohl mesophyll-spzifisch und pathogen-induzierbar sind. Ferner geeignet ist der mesophyll-spezifische Arabidopsis CAB-2 Promotor (GenBank Acc.-No.: X15222), sowie der Zea mays PPCZm1 Promotor (GenBank Acc.-No.: X63869). Insbesondere

bevorzugt sind die Promotor beschrieben durch SEQ ID NO: 30, 31 oder 32.

Die in den erfindungsgemäßen rekombinanten Expressionskassetten oder Vektoren enthaltenen Nukleinsäuresequenzen können mit weiteren genetischen Kontrollsequenzen neben einem Promoter funktionell verknüpft sein. Der Begriff der genetischen Kontrollsequenzen ist breit zu verstehen und meint all solche Sequenzen, die einen Einfluß auf das Zustandekommen oder die Funktion der erfindungsgemäßen rekombinanten Expressionskassette haben. Genetische Kontrollsequenzen umfassen auch weitere Promotoren, Promotorelemente oder Minimalpromotoren, die die expressionssteuernden Eigenschaften modifizieren können. So kann durch genetische Kontrollsequenzen zum Beispiel die gewebespezifische Expression zusätzlich abhängig von bestimmten Streßfaktoren erfolgen. Entsprechende Elemente sind zum Beispiel für Wasserstreß, Abscisinsäure (Lam E & Chua NH (1991) J Biol Chem 266(26):17131-17135) und Hitzestreß (Schoffl F et al. (1989) Mol Gen Genet 217(2-3):246-53) beschrieben.

Genetische Kontrollsequenzen umfassen ferner auch die 5'-untranslatierte Regionen, Introns oder nichtkodierende 3'-Region von Genen wie beispielsweise das Actin-1 Intron, oder die Adh1-S Introns 1, 2 und 6 (allgemein: The Maize Handbook, Chapter 116, Freeling and Walbot, Eds., Springer, New York (1994)). Es ist gezeigt worden, dass diese eine signifikante Funktionen bei der Regulation der Genexpression spielen können. So wurde gezeigt, dass 5'-untranslatierte Sequenzen die transiente Expression heterologer Gene verstärken können. Beispielhaft für Translationsverstärker sei die 5'-Leadersequenz aus dem Tabak-Mosaik-Virus zu nennen (Gallie et al. (1987) Nucl Acids Res 15:8693-8711) und dergleichen. Sie können ferner die Gewebsspezifität fördern (Rouster J et al. (1998) Plant J 15:435-440).

Die rekombinante Expressionskassette kann vorteilhafterweise eine oder mehrere sogenannte "enhancer Sequenzen" funktionell verknüpft mit dem Promoter enthalten, die eine erhöhte rekombinante Expression der Nukleinsäuresequenz ermöglichen. Auch am 3'-Ende der rekombinant zu exprimierenden Nukleinsäuresequenzen können zusätzliche vorteilhafte Sequenzen inseriert werden, wie weitere regulatorische Elemente oder Terminatoren. Die rekombinant zu exprimierenden Nukleinsäuresequenzen können in einer oder mehreren Kopien im

Genkonstrukt enthalten sein.

Als Kontrollsequenzen geeignete Polyadenylierungssignale sind pflanzliche Polyadenylierungssignale, vorzugsweise solche, die im wesentlichen T-DNA Polyadenylierungssignale aus *Agrobacterium tumefaciens*, insbesondere der OCS (Octopin-Synthase)-Terminator und der NOS (Nopalinsynthase)-Terminator.

Als Kontrollsequenzen sind weiterhin solche zu verstehen, die eine homologe Rekombination bzw. Insertion in das Genom eines Wirtsorganismus ermöglichen oder die Entfernung aus dem Genom erlauben. Bei der homologen Rekombination kann zum Beispiel der natürliche Promoter eines BII-Gens gegen einen der bevorzugten gewebespezifischen Promoter ausgetauscht werden. Methoden wie die cre/lox-Technologie erlauben eine gewebespezifische, unter Umständen induzierbare Entfernung der rekombinanten Expressionskassette aus dem Genom des Wirtsorganismus (Sauer B (1998) Methods. 14(4):381-92). Hier werden bestimmte flankierende Sequenzen dem Zielgen angefügt (lox-Sequenzen), die später eine Entfernung mittels der cre-Rekombinase ermöglichen.

Eine rekombinante Expressionskassette und die von ihr abgeleiteten Vektoren können weitere Funktionselemente enthalten. Der Begriff Funktionselement ist breit zu verstehen und meint all solche Elemente, die einen Einfluß auf Herstellung, Vermehrung oder Funktion der erfindungsgemäßen rekombinanten Expressionskassetten, Vektoren oder rekombinanten Organismen haben. Beispielfhaft aber nicht einschränkend seien zu nennen:

30

- a) Selektionsmarker, die eine Resistenz gegen einen Metabolismusinhibitor wie 2-Desoxyglucose-6-phosphat (WO 98/45456), Antibiotika oder Biozide, bevorzugt Herbizide, wie zum Beispiel Kanamycin, G 418, Bleomycin, Hygromycin, oder Phosphinotricin etc. verleihen. Besonders bevorzugte Selektionsmarker sind solche die eine Resistenz gegen Herbizide verleihen. Beispielfhaft seien genannt: DNA Sequenzen, die für Phosphinothricinacetyltransferasen (PAT) kodieren und Glutaminsynthaseinhibitoren inaktivieren (bar und pat Gen), 5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphatsynthasegene (EPSP Synthasegene), die eine Resistenz gegen Glyphosat® (N-(phosphonomethyl)glycin) verleihen, das für das Glyphosat® degradierende Enzyme kodierende gox Gen (Glyphosatoxidoreduktase), das deh Gen (kodierend für eine

Dehalogenase, die Dalapon® inaktiviert), Sulfonylurea- und Imidazolinon inaktivierende Acetolactatsynthasen sowie bxn Gene, die für Bromoxynil degradierende Nitrilaseenzyme kodieren, das aasa-Gen, das eine Resistenz gegen das Antibiotikum Apectinomycin verleiht, das Streptomycinphosphotransferase (SPT) Gen, das eine Resistenz gegen Streptomycin gewährt, das Neomycinphosphotransferase (NPTII) Gen, das eine Resistenz gegen Kanamycin oder Geneticidin verleiht, das Hygromycinphosphotransferase (HPT) Gen, das eine Resistenz gegen Hygromycin vermittelt, das Acetolactatsynthase Gen (ALS), das eine Resistenz gegen Sulfonylharnstoff-Herbizide verleiht (z.B. mutierte ALS-Varianten mit z.B. der S4 und/oder Hra Mutation).

b) Reportergene, die für leicht quantifizierbare Proteine kodieren und über Eigenfarbe oder Enzymaktivität eine Bewertung der Transformationseffizienz oder des Expressionsortes oder -zeitpunktes gewährleisten. Ganz besonders bevorzugt sind dabei Reporter-Proteine (Schenborn E, Groskreutz D. Mol Biotechnol. 1999; 13(1):29-44) wie das "green fluorescence protein" (GFP) (Sheen et al. (1995) Plant Journal 8(5):777-784; Haseloff et al. (1997) Proc Natl Acad Sci USA 94(6):2122-2127; Reichel et al. (1996) Proc Natl Acad Sci USA 93(12):5888-5893; Tian et al. (1997) Plant Cell Rep 16:267-271; WO 97/41228; Chui WL et al. (1996) Curr Biol 6:325-330; Leffell SM et al. (1997) Biotechniques. 23(5):912-8), die Chloramphenicoltransferase, eine Luziferase (Ow et al. (1986) Science 234:856-859; Millar et al. (1992) Plant Mol Biol Rep 10:324-414), das Aequorin (Prasher et al. (1985) Biochem Biophys Res Commun 126(3):1259-1268), die  $\beta$ -Galactosidase, R-Locus Gen (kodieren ein Protein, das die Produktion von Anthocyaninpigmenten (rote Färbung) in pflanzlichen Gewebe reguliert und so eine direkte Analyse der Promotoraktivität ohne Zugabe zusätzlicher Hilfstoffe oder chromogener Substrate ermöglicht; Dellaporta et al., In: Chromosome Structure and Function: Impact of New Concepts, 18th Stadler Genetics Symposium, 11:263-282, 1988), ganz besonders bevorzugt ist die  $\beta$ -Glucuronidase (Jefferson et al., EMBO J. 1987, 6, 3901-3907).

c) Replikationsursprünge, die eine Vermehrung der erfindungsgemäßen rekombinanten Expressionskassetten oder Vektoren in zum Beispiel E.coli gewährleisten. Beispielhaft seien genannt ORI (origin of DNA replication), der pBR322

ori oder der P15A ori (Sambrook et al.: Molecular Cloning. A Laboratory Manual, 2<sup>nd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989).

- 5 d) Elemente, die für eine Agrobakterium vermittelte Pflanzentransformation erforderlich sind, wie zum Beispiel die rechte oder linke Begrenzung der T-DNA oder die vir-Region.
- 10 Zur Selektion erfolgreich homolog rekombinierter oder auch transformierter Zellen ist es in der Regel erforderlich, einen selektionierbaren Marker zusätzlich einzuführen, der den erfolgreich rekombinierten Zellen eine Resistenz gegen ein Biozid (zum Beispiel ein Herbizid), einen Metabolismusinhibitor
- 15 wie 2-Desoxyglucose-6-phosphat (WO 98/45456) oder ein Antibiotikum verleiht. Der Selektionsmarker erlaubt die Selektion der transformierten Zellen von untransformierten (McCormick et al. (1986) Plant Cell Reports 5:81-84).
- 20 Die Einführung einer erfindungsgemäßen rekombinanten Expressionskassette in einen Organismus oder Zellen, Geweben, Organe, Teile bzw. Samen desselben (bevorzugt in Pflanzen bzw. pflanzliche Zellen, Gewebe, Organe, Teile oder Samen), kann vorteilhaft unter Verwendung von Vektoren realisiert werden, in
- 25 denen die rekombinanten Expressionskassetten enthalten sind. Die rekombinante Expressionskassette kann in den Vektor (zum Beispiel ein Plasmid) über eine geeignete Restriktionsschnittstelle eingeführt werden. Das entstandene Plasmid wird zunächst in E.coli eingeführt. Korrekt
- 30 transformierte E.coli werden selektioniert, gezüchtet und das rekombinante Plasmid mit dem Fachmann geläufigen Methoden gewonnen. Restriktionsanalyse und Sequenzierung können dazu dienen, den Klonierungsschritt zu überprüfen.
- 35 Vektoren können beispielhaft Plasmide, Cosmide, Phagen, Viren oder auch Agrobakterien sein. In einer vorteilhaften Ausführungsform wird die Einführung der rekombinanten Expressionskassette mittels Plasmidvektoren realisiert. Bevorzugt sind solche Vektoren, die eine stabile Integration der
- 40 rekombinanten Expressionskassette in das Wirtsgenom ermöglichen.

Die Herstellung eines transformierten Organismus (bzw. einer transformierten Zelle oder Gewebes) erfordert, dass die entsprechende DNA, RNA oder Protein in die entsprechende

Wirtszelle eingebracht wird.

Für diesen Vorgang, der als Transformation (oder Transduktion bzw. Transfektion) bezeichnet wird, steht eine Vielzahl von Methoden zur Verfügung (Keown et al. (1990) Methods Enzymol 185:527-537; Jenes B et al. (1993) Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, herausgegeben von SD Kung und R Wu, Academic Press, S. 128-143 sowie in Potrykus (1991) Annu Rev Plant Physiol Plant Molec Biol 42:205-225).

So kann die DNA oder RNA beispielhaft direkt durch Mikroinjektion oder durch Bombardierung mit DNA-beschichteten Mikropartikeln eingeführt werden. Auch kann die Zelle chemisch, zum Beispiel mit Polyethylenglykol, permeabilisiert werden, so dass die DNA durch Diffusion in die Zelle gelangen kann. Die DNA kann auch durch Protoplastenfusion mit anderen DNA-enthaltenden Einheiten wie Minicells, Zellen, Lysosomen oder Liposomen erfolgen. Elektroporation ist eine weitere geeignete Methode zur Einführung von DNA, bei der die Zellen reversibel durch einen elektrischen Impuls permeabilisiert werden. Entsprechende Verfahren sind beschrieben (beispielsweise bei Bilanz et al. (1991) Gene 100:247-250; Scheid et al. (1991) Mol Gen Genet 228:104-112; Guerche et al. (1987) Plant Science 52:111-116; Neuhauser et al. (1987) Theor Appl Genet 75:30-36; Klein et al. (1987) Nature 327:70-73 ; Howell et al. (1980) Science 208:1265; Horsch et al. (1985) Science 227:1229-1231 ; DeBlock et al. (1989) Plant Physiol 91:694-701).

Bei Pflanzen werden dabei die beschriebenen Methoden zur Transformation und Regeneration von Pflanzen aus Pflanzengewebe oder Pflanzenzellen zur transienten oder stabilen Transformation genutzt. Geeignete Methoden sind vor allem die Protoplastentransformation durch Polyethylenglykol-induzierte DNA-Aufnahme, das biolistische Verfahren mit der Genkanone, die sogenannte "particle bombardment" Methode, die Elektroporation, die Inkubation trockener Embryonen in DNA-haltiger Lösung und die Mikroinjektion.

Neben diesen "direkten" Transformationstechniken kann eine Transformation auch durch bakterielle Infektion mittels Agrobacterium tumefaciens oder Agrobacterium rhizogenes durchgeführt werden. Die Agrobacterium-vermittelte Transformation ist am besten für dicotyledone Pflanzenzellen

geeignet. Die Verfahren sind beispielsweise beschrieben bei Horsch RB et al. (1985) Science 225: 1229f).

- 5 Werden Agrobakterien verwendet, so ist die rekombinante Expressionskassette in spezielle Plasmide zu integrieren, entweder in einen Zwischenvektor (englisch: shuttle or intermediate vector) oder einen binären Vektor. Wird ein Ti oder Ri Plasmid zur Transformation verwendet werden soll, ist  
10 die linke Begrenzung der Ti oder Ri Plasmid T-DNA als flankierende Region mit der einzuführenden rekombinanten Expressionskassette verbunden.

- 15 Bevorzugt werden binäre Vektoren verwendet. Binäre Vektoren können sowohl in E.coli als auch in Agrobacterium replizieren. Sie enthalten in der Regel ein Selektionsmarkergen und einen Linker oder Polylinker flankiert von der rechten und linken T-DNA Begrenzungssequenz. Sie können direkt in Agrobacterium transformiert werden (Holsters et al. (1978) Mol Gen Genet  
20 163:181-187). Das Selektionsmarkergen erlaubt eine Selektion transformierter Agrobakteria und ist zum Beispiel das nptII Gen, das eine Resistenz gegen Kanamycin verleiht. Das in diesem Fall als Wirtsorganismus fungierende Agrobacterium sollte bereits ein Plasmid mit der vir-Region enthalten. Diese ist für die  
25 Übertragung der T-DNA auf die pflanzliche Zelle erforderlich. Ein so transformiertes Agrobacterium kann zur Transformation pflanzlicher Zellen verwendet werden. Die Verwendung von T-DNA zur Transformation pflanzlicher Zellen ist intensiv untersucht und beschrieben (EP 120 516; Hoekema, In: The Binary Plant  
30 Vector System, Offsetdrukkerij Kanters B.V., Alblisserdam, Chapter V; An et al. (1985) EMBO J 4:277-287). Verschiedene binäre Vektoren sind bekannt und teilweise kommerziell erhältlich wie zum Beispiel pBI101.2 oder pBIN19 (Bevan et al. (1984) Nucl Acids Res 12:8711f; Clontech Laboratories, Inc.  
35 USA). Weitere zur Expression in Pflanzen geeignet Promotoren sind beschrieben (Rogers et al. (1987) Methods Enzymol 153:253-277; Schardl et al. (1987) Gene 61:1-11; Berger et al. (1989) Proc Natl Acad Sci USA 86:8402-8406).

- 40 Direkte Transformationstechniken eignen sich im Prinzip für jeden Organismus und Zelltyp. Im Falle von Injektion oder Elektroporation von DNA bzw. RNA in pflanzliche Zellen sind keine besonderen Anforderungen an das verwendete Plasmid gestellt. Einfache Plasmide wie die der pUC-Reihe können

verwendet werden. Sollen vollständige Pflanzen aus den transformierten Zellen regeneriert werden, so ist er erforderlich, das sich auf dem Plasmid ein zusätzliches selektionierbares Markergen befindet.

5

Stabil transformierte Zellen d.h. solche, die die eingeführte DNA integriert in die DNA der Wirtszelle enthalten, können von untransformierten selektioniert werden, wenn ein selektionierbarer Marker Bestandteil der eingeführten DNA ist.

10

Als Marker kann beispielhaft jedes Gen fungieren, dass eine Resistenz gegen Antibiotika oder Herbizide (wie Kanamycin, G 418, Bleomycin, Hygromycin oder Phosphinotricin etc.) zu verleihen vermag (s.o.). Transformierte Zellen, die ein solches Markergen exprimieren, sind in der Lage, in der Gegenwart von

15

Konzentrationen eines entsprechenden Antibiotikums oder Herbizides zu überleben, die einen untransformierten Wildtyp abtöten. Beispiel für geeignete Selektionsmarker sind oben genannt. Sobald eine transformierte Pflanzenzelle hergestellt wurde, kann eine vollständige Pflanze unter Verwendung von dem

20

Fachmann bekannten Verfahren erhalten werden. Hierbei geht man beispielhaft von Kalluskulturen aus. Aus diesen noch undifferenzierten Zellmassen kann die Bildung von Sproß und Wurzel in bekannter Weise induziert werden. Die erhaltenen Sprößlinge können ausgepflanzt und gezüchtet werden. Dem

25

Fachmann sind Verfahren bekannt, um aus Pflanzenzellen, Pflanzenteile und ganze Pflanzen zu regenerieren. Beispielsweise werden hierzu Verfahren beschrieben von Fennell et al. (1992) Plant Cell Rep. 11: 567-570; Stoeger et al (1995) Plant Cell Rep. 14:273-278; Jahne et al. (1994) Theor Appl Genet 89:525-533

30

verwendet. Die erhaltenen Pflanzen können in der üblichen Weise gezüchtet und/oder gekreuzt werden. Zwei oder mehr Generationen sollten kultiviert werden, um sicherzustellen, dass die genomische Integration stabil und vererblich ist.

35

Das erfindungsgemäße Verfahren kann vorteilhaft mit weiteren Verfahren die eine Pathogenresistenz (beispielsweise gegen Insekten, Pilze, Bakterien, Nematoden etc.), Streßresistenz oder eine andere Verbesserung der pflanzlichen Eigenschaften bewirken kombiniert werden. Beispiele sind u.a. genannt bei Dunwell JM

40

(2000) J Exp Bot. 51 Spec No:487-96.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft

Polypeptidsequenzen kodierend für B11 Protein umfassend mindestens eine Sequenz ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus



- a) den Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 28, 30 oder 32,
- 5 b) Sequenzen die eine Homologie von mindestens 90%, bevorzugt mindestens 95%, besonders bevorzugt mindestens 98% zu einer der Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 28, 30 oder 32 aufweisen, und
- 10 c) Sequenzen die mindestens 10, bevorzugt mindestens 20, besonders bevorzugt mindestens 30 zusammenhängende Aminosäuren einer der Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 28, 30 oder 32 umfassen.
- 15 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft Nukleinsäuresequenzen kodierend für die erfindungsgemäßen neuen Polypeptidsequenzen kodierend für BII-Proteine. Bevorzugt sind die Nukleinsäuresequenz gemäß SEQ ID NO: 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31, die dazu komplementäre
- 20 Nukleinsäuresequenz und die durch Entartung (Degeneration) des genetischen Codes abgeleitete Sequenzen.

- Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft rekombinante Expressionskassetten, die eine der erfindungsgemäßen
- 25 Nukleinsäuresequenzen umfassen. In den erfindungsgemäßen rekombinanten Expressionskassetten ist die Nukleinsäuresequenz kodierend für das BII-Protein aus Gerste mit mindestens einem genetischen Kontrollelement nach obiger Definition derart verknüpft, das die Expression (Transkription und ggf.
- 30 Translation) in einem beliebigen Organismus - bevorzugt in Pflanzen - realisiert werden kann. Dazu geeignete genetische Kontrollelemente sind oben beschrieben. Die rekombinanten Expressionskassetten können auch weitere Funktionselementen gemäß obiger Definition enthalten. Die insertierte
- 35 Nukleinsäuresequenz kodierend für ein BII-Protein aus Gerste kann in sense- oder antisense-Orientierung in die Expressionskassette insertiert sein, und damit zu Expression von sense- oder antisense-RNA führen. Erfindungsgemäß sind auch rekombinante Vektoren, die die rekombinanten
- 40 Expressionskassetten beinhalten.

"Rekombinant" meint bezüglich zum Beispiel einer Nukleinsäuresequenz, einer Expressionskassette oder einem Vektor enthaltend besagte Nukleinsäuresequenz oder einem Organismus

transformiert mit besagter Nukleinsäuresequenz, Expressionskassette oder Vektor alle solche durch gentechnische Methoden zustandegekommene Konstruktionen, in denen sich entweder

5

a) die B11 Nukleinsäuresequenz, oder

b) eine mit der B11 Nukleinsäuresequenz funktionell verknüpfte genetische Kontrollsequenz, zum Beispiel ein Promotor, oder

10

c) (a) und (b)

sich nicht in ihrer natürlichen, genetischen Umgebung befinden oder durch gentechnische Methoden modifiziert wurden, wobei

15

die Modifikation beispielhaft eine Substitutionen, Additionen, Deletionen, Inversion oder Insertionen eines oder mehrerer Nukleotidreste sein kann. Natürliche genetische Umgebung meint den natürlichen chromosomalen Locus in dem Herkunftsorganismus oder das Vorliegen in einer genomischen Bibliothek. Im Fall

20

einer genomischen Bibliothek ist die natürliche, genetische Umgebung der Nukleinsäuresequenz bevorzugt zumindest noch teilweise erhalten. Die Umgebung flankiert die

Nukleinsäuresequenz zumindest an einer Seite und hat eine

Sequenzlänge von mindestens 50 bp, bevorzugt mindestens 500 bp,

25

besonders bevorzugt mindestens 1000 bp, ganz besonders bevorzugt mindestens 5000 bp. Eine natürlich vorkommende

Expressionskassette - beispielsweise die natürlich vorkommende Kombination des B11-Promotors mit dem entsprechenden B11-Gen -

wird zu einer rekombinanten Expressionskassette, wenn diese durch nicht-natürliche, synthetische ("künstliche") Verfahren

30

wie beispielsweise einer Mutagenisierung geändert wird. Entsprechende Verfahren sind beschrieben (US 5,565,350; WO 00/15815; siehe auch oben).

35

Ein anderer Gegenstand der Erfindung betrifft rekombinante Organismen, transformiert mit wenigstens einer erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen, Expressionskassette oder einem

erfindungsgemäßen Vektor, sowie Zellen, Zellkulturen, Gewebe, Teile - wie zum Beispiel bei pflanzlichen Organismen Blätter,

40

Wurzeln usw. - oder Vermehrungsgut abgeleitet von solchen

Organismen. Organismus ist breit zu verstehen und meint prokaryotische und eukaryotische Organismen, bevorzugt

Bakterien, Hefen, Pilze, tierische und pflanzliche Organismen.

Als rekombinante Organismen bevorzugte Wirts- oder

Ausgangsorganismen sind vor allem Pflanzen gemäß der oben genannten Definition.

- Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft die Verwendung der erfindungsgemäßen, rekombinanten Organismen und der von ihnen abgeleitete Zellen, Zellkulturen, Teile - wie zum Beispiel bei rekombinanten pflanzlichen Organismen Wurzeln, Blätter etc.- , und rekombinantes Vermehrungsgut wie Saaten oder Früchte, zur Herstellung von Nahrungs- oder Futtermitteln, Pharmazeutika oder Feinchemikalien.

## Sequenzen

- 5
1. SEQ ID NO: 1 : Nukleinsäuresequenz kodierend für ein BI1 Protein aus Gerste (*Hordeum vulgare*).
2. SEQ ID NO: 2 : Aminosäuresequenz kodierend für ein BI1 Protein aus Gerste (*Hordeum vulgare*).
- 10
3. SEQ ID NO: 3 : Nukleinsäuresequenz kodierend für ein BI1 Protein aus *Arabidopsis thaliana*.
4. SEQ ID NO: 4 : Aminosäuresequenz kodierend für ein BI1 Protein aus *Arabidopsis thaliana*.
- 15
5. SEQ ID NO: 5 : Nukleinsäuresequenz kodierend für ein BI1 Protein aus Tabak.
6. SEQ ID NO: 6 : Aminosäuresequenz kodierend für ein BI1 Protein aus Tabak.
- 20
7. SEQ ID NO: 7 : Nukleinsäuresequenz kodierend für ein BI1 Protein aus Reis.
- 25
8. SEQ ID NO: 8: Aminosäuresequenz kodierend für ein BI1 Protein aus Reis.
9. SEQ ID NO: 9 : Nukleinsäuresequenz kodierend für ein BI1 Protein aus Raps.
- 30
10. SEQ ID NO: 10 : Aminosäuresequenz kodierend für ein BI1 Protein aus Raps.
- 35
11. SEQ ID NO: 11 : Nukleinsäuresequenz kodierend für Teil eines BI1 Protein aus Soja.
12. SEQ ID NO: 12: Aminosäuresequenz kodierend für Teil eines BI1 Protein aus Soja.
- 40
13. SEQ ID NO: 13 : Nukleinsäuresequenz kodierend für Teil eines BI1 Protein aus Soja.
14. SEQ ID NO: 14: Aminosäuresequenz kodierend für Teil eines BI1 Protein aus Soja.

## 48

15. SEQ ID NO: 15 : Nukleinsäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Weizen.
- 5 16. SEQ ID NO: 16 : Aminosäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Weizen.
17. SEQ ID NO: 17 : Nukleinsäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Mais.
- 10 18. SEQ ID NO: 18 : Aminosäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Mais.
19. SEQ ID NO: 19 : Nukleinsäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Weizen.
- 15 20. SEQ ID NO: 20 : Aminosäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Weizen.
- 20 21. SEQ ID NO: 21 : Nukleinsäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Mais.
22. SEQ ID NO: 22 : Aminosäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Mais.
- 25 23. SEQ ID NO: 23 : Nukleinsäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Mais.
24. SEQ ID NO: 24 : Aminosäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Mais.
- 30 25. SEQ ID NO: 25 : Nukleinsäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Weizen.
- 35 26. SEQ ID NO: 26 : Aminosäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Weizen.
27. SEQ ID NO: 27 : Nukleinsäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Mais.
- 40 28. SEQ ID NO: 28 : Aminosäuresequenz kodierend für Teil  
eines BI1 Protein aus Mais.
29. SEQ ID NO: 29 : Nukleinsäuresequenz kodierend für den

Patatin Promotor aus Kartoffel.

- 5 30. SEQ ID NO: 30 : Nukleinsäuresequenz kodierend für den  
Germin 9f-3.8 Promotor aus Weizen.
31. SEQ ID NO: 31 : Nukleinsäuresequenz kodierend für den  
Arabidopsis CAB-2 Promotor
- 10 32. SEQ ID NO: 32 : Nukleinsäuresequenz kodierend für den  
PPCZm1 Promotor aus Mais
33. SEQ ID NO: 33 : Nukleinsäuresequenz kodierend für  
rekombinanten Expressionsvektor pUbiBI-1
- 15 34. SEQ ID NO: 34 : Nukleinsäuresequenz kodierend für  
rekombinanten Expressionsvektor  
pLol114UbiBI-1
- 20 35. SEQ ID NO: 35 : Nukleinsäuresequenz kodierend für  
rekombinanten Expressionsvektor pOXoBI-1
36. SEQ ID NO: 36 : Nukleinsäuresequenz kodierend für  
rekombinanten Expressionsvektor  
pLol14OXoBI-1

25

#### Abbildungen

- 30 1. Fig. 1a-d: Vergleich von Proteinsequenzen verschiedener BI-  
1 Proteine aus Pflanzen. AtBI-1: Arabidopsis; BnBI-1:  
Brassica napus (Raps); GmBI2: Glycine max (Soja; Variante  
1); GmBI3: Glycine max (Soja; Variante 2); HVBI-1: Hordeum  
vulgare (Gerste); NtBI-1: Nicotiana tabacum (Tabak); OsBI-1:  
Oryza sativa (Reis); TaBI11: Triticum aestivum (Weizen,  
Variante 1); TaBI18: Triticum aestivum (Weizen, Variante 2);  
35 TaBI5 neu: Triticum aestivum (Weizen, Variante 3); ZmBI14:  
Zea mays (Mais; Variante 1); ZmBI16: Zea mays (Mais;  
Variante 2); ZmBI33: Zea mays (Mais; Variante 3); ZmBI8: Zea  
mays (Mais; Variante 4); Consensus: Aus dem Alignment  
abgeleitete Konsensussequenz.
- 40 2. Fig. 2: Vektorkarte für Vektor pUbiBI-1 (Ubi: Ubiquitin-  
Promotor; BI-1 Nukleinsäuresequenz kodierend für Gerste BI1-  
Protein; ter: Transkriptionsterminator). Angegeben sind

ferner die Lokalisation der Schnittstellen verschiedener Restriktionsenzyme.

- 5 3. Fig. 3: Vektorkarte für Vektor pLO114UbiBI-1 (Ubi: Ubiquitin-Promotor; BI-1 Nukleinsäuresequenz kodierend für Gerste BI1-Protein; ter: Transkriptionsterminator). Angegeben sind ferner die Lokalisation der Schnittstellen verschiedener Restriktionsenzyme.
- 10 4. Fig. 4: Vektorkarte für Vektor pOxoBI-1 (Oxo: TaGermin 9f-2.8 Promotor; BI-1 Nukleinsäuresequenz kodierend für Gerste BI1-Protein; ter: Transkriptionsterminator). Angegeben sind ferner die Lokalisation der Schnittstellen verschiedener Restriktionsenzyme.
- 15 5. Fig. 5: Vektorkarte für Vektor pLO114OxoBI-1 (Oxo: TaGermin 9f-2.8 Promotor; BI-1 Nukleinsäuresequenz kodierend für Gerste BI1-Protein; ter: Transkriptionsterminator). Angegeben sind ferner die Lokalisation der Schnittstellen verschiedener Restriktionsenzyme.
- 20 6. Fig. 6: Vergleich der Proteinssequenzen von BI-1 Proteinen aus Gerste (*Hordeum vulgare*, GenBank Acc.-No.: CAC37797), Reis (*Oryza sativa*, GenBank Acc.-No.: Q9MBD8), *Arabidopsis thaliana* (GenBank Acc.-No.: Q9LD45) und Mensch (*Homo sapiens*, GenBank Acc.-No.: AAB87479). Schwarz hinterlegte Aminosäuren sind identisch in allen Arten. Grau hinterlegte Aminosäuren sind nur in Pflanzen identisch. Balken zeigen die vorausgesagten sieben Transmembrandomänen in HvBI-1 an.
- 25 7. Fig. 7: BI-1 Expression in resistenten und suszeptiblen Gersten-Linien (cDNA Gelblot-Analyse): cDNAs wurde mittels RT-PCR ausgehend von Gesamt-RNA synthetisiert. Gesamt-RNA wurde aus suszeptibler Gersten-Linie Pallas, resistenter Gersten-Linie BCPM1a12 und resistenter Gersten-Linie BCPm1o5 zum Zeitpunkt 0 (d.h. unmittelbar vor Inokkulation), sowie jeweils 1, 4 und 7 Tage nach Inokkulation mit Bgh und parallel dazu aus nicht-infizierten Kontrollpflanzen (Ø) gewonnen. Die RT-PCR für BI-1 wurde unter Verwendung von 20 Zyklen ausgeführt (s.u.). Die eingesetzte RNA-Menge (0.5 µg) wurde zusätzlich durch rRNA-Färbung mit Ethidiumbromid in Gelen kontrolliert. Wiederholung der Experimente ergab vergleichbare Resultate.
- 30 35 40

8. Fig. 8: *BI-1* wird im Mesophyllgewebe exprimiert (cDNA Gelblot-Analyse). RT-PCR wurde ausgehend von RNA isoliert aus Pallas (P) und BCPM1a12 (P10) (24 h nach Inokulation mit *BghA6*) durchgeführt. Für die Extraktion der Gesamt-RNA wurden abaxiale epidermale Streifen (E, inokulierte Positionen der Blätter) vom Mesophyll und der adaxialen Epidermis (M) separiert. *Ubiquitin 1 (Ubi)* wurde als Marker eine gewebeunspezifischen Genexpression verwendet. RT-PCR wurde unter Verwendung von 30 Zyklen durchgeführt.

10

9. Fig. 9: *BI-1* Expression wird während chemischer Resistenzinduktion reprimiert.

15

(A) Chemisch induzierte Resistenz in der Gersten-Linie Pallas gg. *Blumeria graminis* (DC) Speer f.sp. hordei (*Bgh*). Gersten Primärblätter wurden mit 2,6-Dichloroisonicotinsäure (DCINA) behandelt und zeigten weniger Mehltau-Pustulen als entsprechende unbehandelte Kontrollpflanzen.

20

(B) RNA und cDNA Blots. RNA (10 µg) wurde 0, 1, 2 und 3 Tage nach Bodenbehandlung (soil drench treatment; dpt) mit DCINA bzw. der Kontrolle (Trägersubstanz) und zusätzlich 1 und 4 Tage nach Inokulation (dpi, entspricht 4 bzw. 7 dpt) analysiert. RT-PCR (*Ubi*, *BI-1*) wurde unter Verwendung von 20 Zyklen realisiert. Wiederholung führte zu vergleichbaren Ergebnissen (siehe Beispiel 2).

25

30

Als Kontrolle wurde BCI-4 eingesetzt. BCI-4 ist ein DCINA-induziertes Gen (Besser et al. (2000) Mol Plant Pathol. 1(5): 277-286) und ein Mitglied der Barley Chemically (=BTH) Induced- Genfamilie.

35

10. Fig. 10: Überexpression von *BI-1* induziert Super-suszeptibilität.

40

(A) Durchschnittliche Penetrationseffizienz von *Bgh* in 6 unabhängigen Experimenten mit *Bgh* auf Gersten-Linie Ingrid. PE von *Bgh* war signifikant ( $p < 0.01$ , Students t-Test) erhöht in Zellen, die mit *pBI-1* transformiert (bombardiert) wurden im Vergleich zu Zellen, die mit der Leervektor-Kontrolle (*pGY1*) bombardiert wurden.

(B) Die Penetrationseffizienz von *Bgh* auf Zellen die mit einem antisense-*BI-1* Konstrukt (*pasBI-1*) bombardiert wurden,



war nicht-signifikant ( $p > 0.05$ ) vermindert im Vergleich zu Zellen, die mit der Leervektor-Kontrolle (pGY1). bombardiert wurden.

5 Die Säulen geben jeweils den Mittelwert der einzelnen Experimente wieder. Die Balken stellen den Standardfehler dar.

10 11. Fig. 11: Überexpression von *BI-1* induziert Bruch der *mlo5*-vermittelten Penetrationsresistenz. Penetrationseffizienz von *Bgh* wurde in 3 bis 4 unabhängigen Experimenten mit *Bgh* auf den Gersten Linien Ingrid-*mlo5* bzw. Pallas-*mlo5* bewertet. PE durch *Bgh* war signifikant ( $p < 0.05$ ) erhöht in Zellen, die mit *pBI-1* transformiert (bombardiert) wurden im Vergleich zu Zellen, die mit der Leervektor-Kontrolle (pGY1). bombardiert wurden. Die Säulen geben jeweils den Mittelwert von drei unabhängigen Experimente wieder. Die Balken stellen den Standardfehler dar.

20 12. Fig. 12: *BI-1* Expression wird durch toxische Kulturfiltrate aus *Bipolaris sorokiniana* induziert. Northern-Blots (10 µg Gesamt-RNA) mit RNA aus Ingrid (I) und BCIngrid-*mlo5* (I22). RNA wurde 0, 24, 48 und 72 h nach Injektion der toxischen Kulturfiltrate von *Bipolaris sorokiniana* (T) bzw. Wasser (W) isoliert. *BI-1* mRNAs wurde auf Nylonmembranen nach stringenten Waschen detektiert. *BI-1*: Detektion von BAX Inhibitor 1 mRNA; *Ubi*: Detektion von Ubiquitin 1; *Asprot*: Detection der Aspartatprotease mRNA; hat: Stunden nach Behandlung ("h after treatment")

30 13. Fig. 13: *BI-1* Überexpression bricht Nicht-Wirtsresistenz von Gerste (cv. Manchuria) gegen *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*. Penetrationsraten wurden in drei unabhängigen Experimenten untersucht.

## Beispiele

## Allgemeine Methoden:

- 5 Die chemische Synthese von Oligonukleotiden kann beispielsweise, in bekannter Weise, nach der Phosphoamiditmethode (Voet, Voet, 2. Auflage, Wiley Press New York, Seite 896-897) erfolgen. Die im Rahmen der vorliegenden Erfindung durchgeführten Klonierungsschritte wie z.B. Restriktionsspaltungen,
- 10 Agarosegelelektrophorese, Reinigung von DNA-Fragmenten, Transfer von Nukleinsäuren auf Nitrozellulose und Nylonmembranen, Verknüpfen von DNA-Fragmenten, Transformation von *E. coli* Zellen, Anzucht von Bakterien, Vermehrung von Phagen und Sequenzanalyse rekombinanter DNA werden wie bei Sambrook et al. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press; ISBN 0-87969-309-6 beschrieben durchgeführt. Die Sequenzierung rekombinanter DNA-Moleküle erfolgt mit einem Laserfluoreszenz-DNA-Sequenzierer der Firma MWG-Licor nach der Methode von Sanger (Sanger et al. (1977) Proc Natl Acad Sci USA 74:5463-5467).

20

## Beispiel 1: Pflanzen, Pathogene und Inokulation

- Die Gerstensorten Ingrid, Pallas und die rückgekreuzte Linie BCPmla12, BCPmlo5 und BCIngrid-mlo5 (I22) wurde von Lisa Munk, Department of Plant Pathology, Royal Veterinary and Agricultural University, Kopenhagen, Dänemark zur Verfügung gestellt. Ihre Herstellung ist beschrieben (Kølster P et al. (1986) Crop Sci 26: 903-907).
- 25
- 30 Das 12 bis 36 h im Dunkeln auf feuchtem Filterpapier vorgekeimte Saatgut wurde, wenn nicht anders beschrieben, zu je 5 Körnern an den Rand eines Vierkanttopfes (8x8cm) in Fruhstorfer Erde vom Typ P ausgelegt, mit Erde bedeckt und regelmäßig mit Leitungswasser gegossen. Alle Pflanzen wurden in Klimaschränken oder -kammern bei 18°C und 60 % relativer Luftfeuchte und einem 16-stündigen Licht / 8-stündigen Dunkelheitszyklus mit 3000 bzw. 5000 lux (50 bzw. 60  $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$  Photonenflussdichte) 5 bis 8 Tage lang kultiviert und im Keimlingsstadium in den Versuchen verwendet. Bei Experimenten, in denen Applikationen an
- 35
- 40 Primärblättern durchgeführt wurden, waren diese vollständig entwickelt.

Vor Durchführung der transienten Transfektionsexperimente wurden die Pflanzen in Klimaschränken oder -kammern bei tagsüber 24°C,

nachts 20°C, 50 bis 60 % relativer Luftfeuchte und einem 16-stündigen Licht / 8-stündigen Dunkelheitszyklus mit 30000 lux kultiviert.

- 5 Für die Inokulation von Gerstenpflanzen wurde echter Gerstenmehltau *Blumeria graminis* (DC) Speer f.sp. hordei Em. Marchal der Rasse A6 (Wiberg A (1974) Hereditas 77: 89-148) (BghA6) verwendet. Dieser wurde vom Institut für Biometrie, JLU Gießen bereitgestellt. Die Nachzucht des Inokulums erfolgte in
- 10 Klimakammern zu den gleichen Bedingungen, wie sie oben für die Pflanzen beschrieben sind, durch Übertragung der Konidien von befallenem Pflanzenmaterial auf regelmäßig angezogene, 7 Tage alte Gerstenpflanzen cv. Golden Promise bei einer Dichte von 100 Konidien/mm<sup>2</sup>.
- 15 Die Inokulation erfolgte auf primäre Blätter von Gerstenpflanzen mit nachfolgenden Konidien-Dichten: 5 Konidien/ mm<sup>2</sup> bei chemischer Induktion von Resistenz und makroskopischer Auswertung des Induktionserfolges, 50 Konidien/ mm<sup>2</sup> bei
- 20 Genexpressionsstudien und 150 Konidien/ mm<sup>2</sup> bei Überprüfung der Gentransformation mit transformierten Blattsegmenten. Die Inokulation mit BghA6 erfolgte unter Verwendung von 7 Tagen alten Keimlingen durch Abschütteln der Konidien bereits befallener Pflanzen in einem Inokulationsturm (soweit
- 25 nicht anders angegeben).

#### Beispiel 2: Modulation der BI1 Expression mit DCINA

- 2,6-Dichlorisonikotinsäure (DCINA, Syngenta AG, Basel, Schweiz; als 25% (w/w) Formulierung) wurde auf 4-Tage alte
- 30 Gerstenschößlinge der Sorte Pallas mittels Bodenbewässerung ("soil drench") in einer Endkonzentration von 8 mg/l Bodenvolumen appliziert. Die verwendete Suspension wurde mit Leitungswasser angesetzt. Als Kontrolle diente eine
- 35 Bodenbewässerung mit dem Trägermaterial (benetzbares Pulver "wetable powder"). Nach drei Tagen wurden die Pflanzen mit *Blumeria graminis* (DC) Speer f.sp. hordei Em. Marchal der Rasse A6 (5 Konidien/ mm<sup>2</sup>) infiziert. Pflanzen mit chemisch induzierter Resistenz (CIR) wiesen ca. 70% weniger
- 40 Mehлтаukolonien auf als die entsprechenden Kontrollpflanzen, die nur mit der Trägersubstanz behandelt wurden (Fig. 9A).

Northern Blot und RT-PCT Blots wurden zur Bestimmung der BI1 Transkriptmengen durchgeführt und zeigten eine überraschende

Verminderung der *B11* Expression 1 bis 3 Tage nach chemischer Behandlung (Fig. 9B).

### Beispiel 3: RNA-Extraktion

5

Gesamt RNA wurde aus 8 bis 10 primären Blattsegmenten (Länge 5 cm) mittels "RNA Extraction Buffer" (AGS, Heidelberg, Germany) extrahiert. Dazu wurden die zentrale Primärblattsegment von 5 cm Länge geerntet und in flüssigem Stickstoff in Mörsern

10 homogenisiert. Das Homogenisat wurde bis zur RNA-Extraktion bei -70°C gelagert. Aus dem tiefgefrorenen Blattmaterial wurde mit Hilfe eines RNA-Extraktions-Kits (AGS, Heidelberg) Gesamt-RNA extrahiert. Dazu wurden 200 mg des tiefgefrorenen Blattmaterials in einem Mikrozentrifugenröhrchen (2 mL) mit 1,7 mL RNA-

15 Extraktionspuffer (AGS) überschichtet und sofort gut durchmischt. Nach Zugabe von 200 µL Chloroform wurde erneut gut gemischt und bei Raumtemperatur 45 min auf einem Horizontalschüttler bei 200 U/min geschüttelt. Anschließend wurde zur Phasentrennung 15 min bei 20000 g und 4°C

20 zentrifugiert, die obere wäßrige Phase in ein neues Mikrozentrifugenröhrchen überführt und die untere verworfen. Die wäßrige Phase wurde erneut mit 900 µL Chloroform gereinigt, indem 3 mal für 10 sec homogenisiert und erneut zentrifugiert (s.o.) und abgehoben wurde. Zur Fällung der RNA wurde dann

25 850 µL 2-Propanol hinzugegeben, homogenisiert und für 30 bis 60 min auf Eis gestellt. Im Anschluß daran wurde für 20 min zentrifugiert (s.o), vorsichtig der Überstand dekantiert, 2 mL 70 %iges Ethanol (-20°C) hinzu pipettiert, durchmischt und erneut 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde dann wiederum

30 dekantiert und das Pelet vorsichtig mit einer Pipette von Flüssigkeitsresten befreit, bevor es an einem

Reinluftarbeitsplatz im Reinluftstrom getrocknet wurde. Danach wurde die RNA in 50 µL DEPC-Wasser auf Eis gelöst, durchmischt

und 5 min zentrifugiert (s.o.). 40 µl des Überstandes wurden als

35 RNA-Lösung in ein neues Mikrozentrifugenröhrchen überführt und bei -70°C gelagert.

Die Konzentration der RNA wurde photometrisch bestimmt. Dazu wurde die RNA-Lösung 1:99 (v/v) mit destilliertem Wasser

40 verdünnt und die Extinktion (Photometer DU 7400, Beckman) bei 260 nm gemessen ( $E_{260\text{ nm}} = 1$  bei 40 µg RNA/mL). Gemäß der errechneten RNA-Gehalte wurden die Konzentrationen der RNA-Lösungen anschließend mit DEPC-Wasser auf 1 µg/µL angeglichen

und im Agarosegel überprüft.

Zur Überprüfung der RNA-Konzentrationen im horizontalen Agarosegel (1 % Agarose in 1 x MOPS-Puffer mit 0,2 µg/mL Ethidiumbromid) wurde 1 µL RNA-Lösung mit 1 µL 10 x MOPS, 1 µL Farbmaler und 7 µL DEPC-Wasser versetzt, nach Ihrer Größe bei 120 V Spannung im Gel in 1 x MOPS-Laufpuffer über 1,5 h aufgetrennt und unter UV-Licht fotografiert. Eventuelle Konzentrationsunterschiede der RNA-Extrakte wurden mit DEPC-Wasser ausgeglichen und die Anpassung erneut im Gel überprüft.

#### Beispiel 4: Klonierung der BI1 cDNA Sequenz aus Gerste

Der Vollllängenklon von hvBI1 (GenBank Acc.-No.: AJ290421) umfaßt am 3'-Ende zwei Stopp-Codons und am 5'-Ende ein potentiellles Start-Codon. Der ORF überspannt 247 Aminosäuren und zeigt die höchste Sequenzhomologie zu einem BI1-Gen aus Reis, Mais, Brassica napus und Arabidopsis thaliana (jeweils 86% Identität auf Nukleotidebene) sowie einem humanen BI1-Homolog (53% Ähnlichkeit) (Fig. 1 und 6). Die Aminosäuresequenz von hvBI1 umfaßt sieben potentielle Transmembrandomänen mit einer Orientierung des C-Terminus im Cytosol.

Nachfolgende Konstrukte wurden hergestellt:

- 25 a) Amplifikation eines 478 bp Fragment der Gerste BI1 cDNA (GenBank Acc.-No.: AJ290421)
- 30 BI1-sense 5'-atggacgccttctactcgacctcg-3'  
BI1-antisense 5'- gccagagcaggatcgacgcc-3'
- b) Amplifikation eines 513 bp Ubi cDNA Fragment (GenBank Acc.-No.: M60175)
- 35 UBI-sense 5'-ccaagatgcagatcttcgtga-3'  
UBI-antisense 5'-ttcgcgataggtaaaagagca-3'
- c) Amplifikation eines 871 bp Vollllängen BI1 Leserahmens
- 40 BI1VL sense 5'-ggattcaacgcgagcgcaggacaagc-3'\_  
BI1VL antisense 5'-gtcgcgcggtgacggtatctacatg-3`

Die erhaltenen Fragmente wurden in den Vektor pGEM-T mittels T-Überhang-Ligation ligiert und dienten als Ausgangsplasmide für

die Herstellung von Sonden (z.B. für Northern-Blot) bzw. dsRNA. Die einzelnen Konstrukte trugen die Bezeichnung pGEMT-BI1, pGEMT-BI1VL(240) und pGEMT-UBI.

- 5 Das BI1-Volllängenprodukt wurde aus pGEMT in die SalI Schnittstelle des pGY-1 vektors (Schweizer, P., Pokorny, J., Abderhalden, O. & Dudler, R. (1999) Mol. Plant-Microbe Interact. 12, 647-654) unter Verwendung der SalI-Schnittstelle in pGEMT und mittels der dem BI1VL antisense Primer angefügten SalI-Schnittstellen umklontiert. Vektoren mit sense (pBI-1) und antisense Orientierung (pasBI-1) wurden isoliert und resequenziert. Die Vektoren enthalten die BI-1 Sequenz unter Kontrolle des CaMV 35S Promotors.

15 Beispiel 5: Reverse Transkription - Polymerasekettenreaktion (RT-PCR)

- 20 Zum Nachweis von niedrigen Transkriptmengen wurde eine semi-quantitative RT-PCR unter Verwendung des "OneStep RT-PCR Kit" (Qiagen, Hilden, Germany) durchgeführt. Dabei wurde RNA (Isolation s.o.) zuerst in cDNA übersetzt (Reverse Transkription) und in einer anschließenden PCR-Reaktion mit spezifischen Primern die gesuchte cDNA amplifiziert. Um die Ausgangsmenge an Matrizen RNA abzuschätzen, wurde die
- 25 Amplifikation während der exponentiellen Phase (nach 20 Zyklen) unterbrochen um Unterschiede in der Ziel-RNA wiederzuspiegeln. Die PCR Produkte wurden über ein Agarosegel aufgetrennt, denaturiert, auf Nylonmembranen gebロットet und mit spezifischen, nicht-radioaktiv-markierten Sonden unter stringenten
- 30 Standardbedingungen detektiert. Hybridisierung, Waschschritte und Immunodetektion erfolgten wie unter "Northern Blot" beschrieben. Für die einzelnen Reaktionen (25 µL-Ansatz) wurden unter Verwendung des "One Step RT-PCR Kit" (Qiagen, Hilden, Deutschland) zusammengegeben:

- 35 1000 ng Gesamt-RNA einer bestimmten Probe  
0,4 mM dNTPs,  
jeweils 0,6 µM sense- und antisense-Primer  
0,10 µl RNase-Inhibitor
- 40 1 µL Enzymmix in 1x RT-Puffer

Die cDNA-Synthese (reverse Transkription) erfolgte für 30 min bei 50°C. Anschließend wurde die Reverse Transkriptase für 15 min bei 95°C inaktiviert, was zugleich Aktivierung der DNA-

Polymerase und Denaturierung der cDNA bewirkt. Anschließend folgt eine PCR gemäß nachfolgendem Programm: 1 min mit 94 °C; 25 Zyklen mit 1 min mit 94 °C; 1 min mit 54°C und 1 min mit 72°C; abschließend 10 min mit 72°C. Dann Lagerung bei 4°C bis zur

5 Weiterverarbeitung. Die PCR-Produkte wurden im 1xTBE-Agarosegel mit Ethidiumbromid aufgetrennt. Für die einzelnen Ansätze wurden mit den oben angegebenen Primer-Paaren amplifiziert.

#### Beispiel 6: Northern-Blot Analyse

10

Zur Vorbereitung des Northern-Blottings wurde die RNA im Agarosegel unter denaturierenden Bedingungen aufgetrennt. Ein Teil RNA-Lösung (entsprechend 10 µg RNA) wurde dazu mit gleichem Volumen Probenpuffer (mit Ethidiumbromid) gemischt, 5 min bei

15 94°C denaturiert, 5 min auf Eis gestellt, kurz zentrifugiert und aufs Gel aufgetragen. Das 1 x MOPS-Gel (1,5 % Agarose, ultra pure) enthielt 5 Volumenprozent konzentrierte Formaldehydlösung (36,5 % [v/v]). Die RNA wurde bei 100 V 2 h lang aufgetrennt und anschließend geblottet.

20

Das Northern-Blotting erfolgte als aufwärtsgerichteter RNA-Transfer im Kapillarstrom. Das Gel wurde dazu zunächst 30 min in 25 mM Natriumhydrogen/dihydrogenphosphat-Puffer (pH 6,5) geschwenkt und zurechtgeschnitten. Ein Whatmanpapier wurde so

25 vorbereitet, dass es auf einer horizontalen Platte auflag und auf 2 Seiten in eine Wanne mit 25 mM Natriumhydrogen/dihydrogenphosphat-Puffer (pH 6,5) ragte. Auf dieses Papier wurde das Gel aufgelegt, wobei nicht bedeckte Teile des Whatmanpapiers mit einer Plastikfolie abgedeckt

30 wurden. Das Gel wurde dann mit einer positiv geladenen Nylonmembran (Boehringer-Mannheim) luftblasenfrei abgedeckt, wonach die Membran wiederum mit saugfähigem Papier in mehreren Lagen etwa 5 cm hoch bedeckt wurde. Das saugfähige Papier wurde noch mit einer Glasplatte und einem 100 g Gewicht beschwert. Das

35 Blotting erfolgte über Nacht bei Raumtemperatur. Die Membran wurde kurz in A. bidest. geschwenkt und zur RNA-Fixierung mit einer Lichtenergie von 125 mJ im Crosslinker (Biorad) UV-Licht bestrahlt. Die Überprüfung des gleichmäßigen RNA-Transfers auf die Membran erfolgte auf der UV-Lichtbank.

40

Zur Detektion von Gersten mRNA wurden 10 mg Gesamt-RNA aus jeder Probe über ein Agarosegel aufgetrennt und mittels Kapillartransfer auf eine positiv-geladene Nylonmembran geblottet. Die Detektion erfolgte mit dem DIG-Systeme nach

Herstellerangaben unter Verwendung von Digoxigenin-markierten antisense-RNA Sonden (wie beschrieben in Hückelhoven R et al. (2001) Plant Mol Biol 47:739-748).

- 5 Herstellung der Sonden: Zur Hybridisierung mit den zu detektierenden mRNAs wurden mit Digoxigenin oder Fluoreszein markierte RNA Sonden hergestellt. Diese wurden durch in vitro Transkription eines PCR-Produktes mittels einer T7 oder SP6 RNA Polymerase mit markierten UTPs erstellt. Als Vorlage für die PCR
- 10 gestützte Amplifikation dienten die oben beschriebenen Plasmidvektoren pGEMT-BI1 , pGEMT-UBI. Je nach Orientierung des Inserts wurden unterschiedliche RNA-Polymerasen zur Herstellung des antisense-Stranges herangezogen. Die T7-RNA-Polymerase wurde für pGEMT-BI1 verwendet, die SP6-RNA-Polymerase für pGEMT-
- 15 UBI. Das Insert der einzelnen Vektor wurde über PCR mit flankierenden Standard-Primern (M13 fwd und rev) amplifiziert. Die Reaktion lief dabei mit folgenden Endkonzentrationen in einem Gesamtvolumen von 50 µL PCR-Puffer (Silverstar) ab:
- 20 M13-fwd: 5'-GTAAAACGACGGCCAGTG-3'  
M13-Rev: 5'-GGAAACAGCTATGACCATG-3'
- 25 10 % Dimethylsulfoxid (v/v)  
je 2 ng/µL Primer (M13 forward und reversed)  
1,5 mM MgCl<sub>2</sub>,  
0,2 mM dNTPs,  
4 Units Taq-Polymerase (Silverstar),  
2 ng/µL Plasmid-DNA.
- 30 Die Amplifikation verlief in einem Thermocycler (Perkin-Elmer 2400) temperaturgesteuert mit nachfolgendem Temperaturprogramm: 94°C für 3 min; 30 Zyklen mit 94°C für 30 sek, 58°C für 30 sek und 72°C für 1,2 min; 72°C für 5 min; anschließend Kühlung bei
- 35 1 %igen Agarosegel überprüft. Die Produkte wurden anschließend mit einem "High Pure PCR-Product Purification Kit" (Boehringer-Mannheim) aufgereinigt. Man erhielt etwa 40 µL Säuleneluat, das erneut im Gel überprüft und bei -20°C gelagert wurde.
- 40 Die RNA Polymerisation, die Hybridisierung und die Immuno-detektion wurden weitestgehend nach Angaben des Herstellers des Kits zur nicht-radioaktiven RNA-Detektion durchgeführt (DIG System User's Guide, DIG-Luminescence detection Kit, Boehringer-Mannheim, Kogel et al. (1994) Plant Physiol 106:1264-1277). 4 µl



gereinigtes PCR-Produkt wurden mit 2 µL Transskriptionspuffer, 2 µL NTP-Markierungsmix, 2 µL-NTP-Mix und 10 µL DEPC-Wasser versetzt. Anschließend wurden 2 µL der T7-RNA-Polymeraselösung zu pipettiert. Die Reaktion wurde dann 2 h bei 37°C durchgeführt und anschließend mit DEPC-Wasser auf 100 µL aufgefüllt. Die RNA-Sonde wurde im Ethidiumbromidgel detektiert und bei -20°C gelagert.

Zur Vorbereitung der Hybridisierung wurden die Membranen zunächst 1 h bei 68°C in 2 x SSC (Salt, Sodiumcitrate), 0,1 % SDS-Puffer (Natriumdodecylsulfat) geschwenkt, wobei der Puffer 2 bis 3 mal erneuert wurde. Die Membranen wurden anschließend an die Innenwand auf 68°C vorgeheizter Hybridisierungsröhren angelegt und 30 min mit 10 mL *Dig-Easy*-Hybridisierungspuffer im vorgeheizten Hybridisierungssofen inkubiert. Währenddessen wurden 10 µL Sondenlösung in 80 µL Hybridisierungspuffer bei 94°C für 5 min denaturiert, anschließend auf Eis gestellt und kurz zentrifugiert. Zur Hybridisierung wurde die Sonde dann in 10 mL 68°C warmem Hybridisierungspuffer überführt, und der Puffer in der Hybridisierungsröhre durch diesen Sondenpuffer ersetzt. Die Hybridisierung erfolgte dann ebenfalls bei 68°C über Nacht. Vor Immundetektion von RNA-RNA Hybriden wurden die Blots stringent zweimal für jeweils 20 min in 0.1 % (w/v) SDS, 0.1 x SSC bei 68°C gewaschen. Zur Immundetektion wurden die Blots zunächst zweimal für 5 min bei RT in 2 x SSC, 0,1 % SDS geschwenkt. Anschließend erfolgten 2 stringente Waschschrte bei 68°C in 0,1 x SSC, 0,1 % SDS für je 15 min. Die Lösung wurde anschließend durch Waschpuffer ohne Tween ersetzt. Es wurde 1 min geschüttelt und die Lösung durch Blocking-Reagenz ausgetauscht. Nach weiteren 30 min Schütteln wurden 10 µL Anti-Fluoreszein-Antikörperlösung hinzugefügt und weitere 60 min geschüttelt. Es folgten zwei 15 minütige Waschschrte in Waschpuffer mit Tween. Die Membran wurde anschließend 2 min in Substratpuffer äquilibriert und nach Abtropfen auf eine Kopierfolie überführt. Auf der "RNA-Seite" der Membran wurde dann ein Gemisch aus 20 µL CDP-Star™ und 2 mL Substratpuffer gleichmäßig verteilt. Im Anschluß wurde die Membran mit einer zweiten Kopierfolie abgedeckt und an den Rändern mit Hitze luftblasenfrei und wasserdicht verschweißt. Die Membran wurde dann in einer Dunkelkammer für 10 min mit einem Röntgenfilm bedeckt und dieser anschließend entwickelt. Je nach Stärke der Lumineszenzreaktion wurde die Belichtungszeit variiert.

Wenn nicht extra gekennzeichnet waren die Lösungen im

## 61

Lieferumfang des Kits enthalten (DIG-Luminescence detection Kit, Boehringer-Mannheim). Alle anderen wurden aus folgenden Stammlösungen durch Verdünnung mit autoklaviertem, destilliertem Wasser hergestellt. Alle Stammlösungen wurden, wenn nicht anders  
5 spezifiziert, mit DEPC (wie DEPC-Wasser) angesetzt und anschließend autoklaviert.

- 10 - DEPC-Wasser: Destilliertes Wasser wird über Nacht bei 37°C mit Diethylpyrokarbonat (DEPC, 0,1 %, w/v) behandelt und anschließend autoklaviert
- 10 x MOPS-Puffer: 0,2 M MOPS (Morpholin-3-propansulfonsäure), 0,05 M Natriumacetat, 0,01 M EDTA, pH mit 10 M NaOH auf pH 7,0 eingestellt
- 15 - 20 x SSC (Natriumchlorid-Natriumzitrat, Salt-Sodiumcitrate): 3 M NaClO, 0,3 M triNatriumcitrat x 2 H<sub>2</sub>O, pH mit 4 M HCl auf pH 7,0 eingestellt.
- 20 - 1 % SDS (Natriumdodecylsulfat, Sodiumdodecylsulfate) Natriumdodecylsulfat (w/v), ohne DEPC
- RNA-Probenpuffer: 760 µL Formamid, 260 µL Formaldehyd, 100 µL Ethidiumbromid (10 mg/mL), 80 µL Glycerol, 80 µL Bromphenolblau (gesättigt), 160 µL 10 x MOPS, 100 µL Wasser.  
25
- 10 x Waschpuffer ohne Tween: 1,0 M Maleinsäure, 1,5 M NaCl; ohne DEPC, mit NaOH (fest, ca. 77 g) und 10 M NaOH auf pH 7,5 einstellen.
- 30 - Waschpuffer mit Tween: aus Waschpuffer ohne Tween mit Tween (0,3 %, v/v)
- 10 x Blockingreagenz: 50 g Blockingpulver (Boehringer-Mannheim) in 500 mL Waschpuffer ohne Tween suspendieren.  
35
- Substratpuffer: 100 mM Tris (Trishydroxymethylamino-methan), 150 mM NaCl mit 4 M HCl auf pH 9,5 einstellen.
- 40 - 10 x Farbmarker: 50 % Glycerol (v/v), 1,0 mM EDTA pH 8,0, 0,25 % Bromphenolblau (w/v), 0,25 % Xylencyanol (w/v).

Eine BI1 Expression wurde wie beschrieben mit RT-PCR und cDNA Gelblots untersucht und ergab, dass BI1 überwiegend im

Mesophyllgewebe von Blättern exprimiert wird, während Ubiquitin konstitutiv gleichmäßig in Epidermis und Mesophyll exprimiert wird (Fig. 8).

- 5 Ferner ist eine Expression von BI1 als Reaktion auf Behandlung der Pflanzen mit toxischen Kulturfiltraten von *Bipolaris sorokiniana* zu beobachten. Primärblätter der Gerste zeigen typische nekrotische Flecke (leaf spot blotch symptoms) nach Behandlung der Pflanzen mit toxischen Kulturfiltraten von
- 10 *Bipolaris sorokiniana* (durchgeführt wie bei Kumar et al. 2001 beschrieben). Die Blattnekrosen waren erkennbar 48 h nach Behandlung. Der beobachtete Gewebeschaden war in der Bgh-resistenten Linie BCIngrid-mlo5 (I22) deutlicher ausgeprägt als in der Elterlinie Ingrid (Mlo-Genotype, Kumar et al. 2001). Die
- 15 Expression von BI1 korreliert 72 h nach Behandlung (hat) mit der Ausprägung der Blattnekrosen (Fig. 12).

Beispiel 7:

- 20 Die zur stabilen, mesophyll-spezifischen Überexpression wird der Oxalat-Oxidase Promoter (germin 9f-2.8) aus Weizen eingesetzt. In Gerste ist die entsprechende Oxalat-Oxidase Expression Mesophyll-spezifisch, schwach konstitutiv und Pathogen-responsiv (Gregersen PL et al. (1997) *Physiol Mol Plant Pathol* 51: 85-97).
- 25 Er kann deshalb zur Mesophyll-spezifischen Expression von BI1 genutzt werden. Zur Kontrolle wird HvBI1 unter Kontrolle des Mais-Ubiquitinpromoters (Christensen AH et al. (1992) *Plant Mol Biol* 18:675-689) oder des Reis-Aktinpromoters überexprimiert (Zhang W et al. (1991) *Plant Cell* 3:1155-1165). Eingesetzt
- 30 werden nachfolgende Konstrukte:
- a) pUbiBI-1 (SEQ ID NO: 33; für transiente Gerstentransformation und Weizentransformation mit Partikel Bombardement. Expression von BI-1 unter Kontrolle des Mais Ubiquitin Promotors).
- 35
- b) pLol14UbiBI-1 (SEQ ID NO: 34; erhalten durch Umklonierung der Ubi/BI-1 Expressionscassette als EcoR1-Fragment aus pUbiBI-1 in pLol14-GUS-Kan; Binärer Vektor für transiente
- 40 Gerstentransformation mit *A. tumefaciens*)
- c) pOXoBI-1 (SEQ ID NO: 35; Mesophyllspezifischer TaGermin 9f-2.8 Promoter vor BI1 zur Weizentrafo über Patikelbombardement.

d) pLol14OXoBI-1 (SEQ ID NO: 36)

Es werden Wildtypgerste und Weizen sowie mlo-Gerste  
5 transformiert, vermehrt und geselbstet. Die Transformation von  
Gerste und Weizen erfolgt wie beschrieben (Repellin A et al.  
(2001) Plant Cell, Tissue and Organ Culture 64: 159-183): Dazu  
werden Kalli aus unreifen Weizen- (bzw. Gersten-) embryonen über  
biolistischen Gentransfer mit Mikroprojektilen transformiert.  
10 Dabei werden pUC basierte Vektoren zusammen mit Vektoren die  
Selektionsmarker tragen kotransformiert. Anschließend werden die  
Embryonen auf Selektionsmedium kultiviert und regeneriert.  
Gerste wird mit Hilfe von *Agrobacterium tumefaciens*  
transformiert. Dabei wird ein binärer Vektor auf Basis von  
15 pCambia\_1301 eingesetzt. Unreife Embryonen von Gerste werden mit  
*A. tumefaciens* cokultiviert, selektiert und anschließend  
regeneriert (Repellin A et al. (2001) Plant Cell, Tissue and  
Organ Culture 64: 159-183; Horvath H et al. (2003) Proc Natl.  
Acad Sci USA 100: 365-369; Horvath H et al. (2002) in Barley  
20 Science, eds. Slafer, G. A., Molina-Cano, J. L., Savin, R.,  
Araus, J. L. & Romagosa, J. (Harworth, New York), pp. 143-176;  
Tingay S et al. (1997) Plant J. 11: 1369-1376).

Die transgenen (rekombinanten) Gersten- und Weizenpflanzen der  
25 T1 oder T2-Generation werden auf Resistenz gegenüber  
hemibiotrophen und perthotrophen Erregern geprüft. Dazu werden  
die Blätter mit verschiedenen Pathogenen inokuliert. Als  
biotrophe Erreger werden Gerstenmehltau (*Blumeria graminis* f.sp.  
*hordei*) und Braunrost (*Puccinia hordei*) verwendet. Als Maß der  
30 Mehltauanfälligkeit wird die Pustelzahl pro Blattfläche 5-7 Tage  
nach Inokulation mit 2-5 Konidien pro mm<sup>2</sup> Blattfläche  
ausgewertet (Beßer K et al. (2000) Mol Plant Pathology 1: 277-  
286). Als hemibiotrophe Erreger werden *Bipolaris sorokiniana* n  
und *Magnaporthe grisea* verwendet. Die Inokulation erfolgt wie  
35 zuvor beschrieben (Kumar J et al. (2001) Phytopathology 91: 127-  
133; Jarosch B et al. (1999) Mol Plant Microbe Inter 12: 508-  
514). Als Maß für die Anfälligkeit dient die Anzahl und Größe  
der Blattläsionen 2 bis 6 Tage nach Sprühinokulation mit  
Konidien (Kumar J et al. (2001) Phytopathology 91:127-133;  
40 Jarosch B et al. (1999) Mol Plant Microbe Inter 12:508-514;  
Jarosch B et al. (2003) Mol Plant Microbe Inter 16:107-114.).  
Als perthotropher Erreger wird *Fusarium graminearum* verwendet.

## 64

Zur Bestimmung der Fusarium Head Blight (FHB) Typ I-Resistenz werden Weizenähren in einem frühen Blühstadium mit einer Makrokonidien-Suspension ( $\text{ca. } 2 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ ) von *Fusarium graminearum* bzw. *Fusarium culmorum* besprüht. Die inokulierten Pflanzen werden für 3 Tage in eine Nebelkammer mit 25°C Lufttemperatur und 100% relativer Luftfeuchte transferriert. Danach werden die Pflanzen im Gewächshaus unter Dauerlicht bei einer Temperatur von 20°C inkubiert und die Stärke der FHB-Symptome über die Ähre hinweg nach 5, 7 und 8 Tagen evaluiert.

Zur Quantifizierung der Fusarium Head Blight (FHB) Typ II-Resistenz werden jeweils 10 - 20 µl Aliquots einer Makrokonidien-Suspension ( $\text{ca. } 2 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ ) von *Fusarium graminearum* bzw. *Fusarium culmorum* in einzelne, relativ zentral gelegene Ährchen von Weizenpflanzen injiziert. Die inokulierten Pflanzen werden für 3 Tage in eine Nebelkammer mit 25°C Lufttemperatur und 100% relativer Luftfeuchte transferriert. Danach werden die Pflanzen im Gewächshaus unter Dauerlicht bei einer Temperatur von 20°C inkubiert und die Ausbreitung der FHB-Symptome über die Ähre hinweg nach 7, 14 und 21 Tagen evaluiert. Die Ausbreitung der Symptome über die Ähre (das sog. Fusarium-Spreading) wird als Mass für die FHB Typ II-Resistenz genommen.

Vergleichsbeispiel 1: Transiente B11 Expression in der Epidermis und Evaluation der Pilzpathogenentwicklung

Gerste cv Ingrid Blattsegmente wurden mit einer pGY-B11 zusammen mit einem GFP-Expressionsvektor transformiert. Anschließend wurden die Blätter mit Bgh inokuliert und das Ergebnis nach 48 h mittels Licht- und Fluoreszenzmikroskopie analysiert. Die Penetration in GFP-exprimierenden Zellen wurde mittels Detektion von Haustorien in lebenden Zellen und durch Bewertung der Pilzentwicklung aufin eben diesen Zellen beurteilt. Es wurde ein Verfahren zur transienten Transformation eingesetzt, das bereits für die biolistische Einführung von DNA und RNA in epidermale Zellen von Gerstenblättern beschrieben wurde (Schweizer P et al. (1999) Mol Plant Microbe Interact 12:647-54; Schweizer P et al. (2000) Plant J 2000 24:895-903).

Für Microcarrier-Präparation wurden 55 mg Wolframpartikel (M 17, Durchmesser 1,1 µm; Bio-Rad, München) zweimal mit 1 ml autoklaviertem Destilliertem Wasser und einmal mit 1 mL

absolutem Ethanol gewaschen, getrocknet und in 1 ml 50 %igem Glycerin aufgenommen (ca. 50 mg/ml Stammlösung). Die Lösung wurde mit 50%igem Glycerin auf 25 mg/ml verdünnt, vor Gebrauch gut gemischt und im Ultraschallbad suspendiert.

5

Zur Microcarrier-Beschichtung wurden pro Schuß 0,3 µg Plasmid pGFP (GFP unter Kontrolle des CaMV 35S Promotors; Schweizer P et al. (1999) *Mol Plant-Microbe Interact* 12:647-654.), 0,7 µg Leervektor pGY bzw. pGY-BI1 (1 µL), 12,5 µl Wolframpartikel-Suspension (25 mg/ml; entsprechend 312 µg Wolframpartikel), 12,5 µl 1 M Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-Lösung (pH 10) tropfenweise unter ständigem Mischen zusammengegeben, 10 min bei RT stehengelassen, kurz zentrifugiert und 20 µl vom Überstand abgenommen. Der Rest mit den Wolframpartikel wird resuspendiert (Ultraschallbad) und ins Experiment eingesetzt.

15

Es wurden ca. 4 cm lange Segmente von Gerstenprimärblättern verwendet. Die Gewebe wurden auf 0,5 % Phytagar (GibcoBRL™ Life Technologies™, Karlsruhe) mit 20 µg/ml Benzimidazol in Petrischalen (6,5 cm Durchmesser) gelegt und direkt vor dem Partikelbeschuss an den Rändern mit einer Schablone mit einer rechteckigen Aussparung von 2,2 cm x 2,3 cm abgedeckt. Die Schalen wurden nacheinander auf den Boden der Vakuumkammer (Schweizer P et al. (1999) *Mol Plant Microbe Interact* 12:647-54) gestellt, über dem ein Nylonnetz (Maschenweite 0,2 mm, Millipore, Eschborn) als Diffusor auf einer Lochplatte eingeschoben war (5 cm über dem Boden, 11 cm unterhalb des Macrocarriers, s.u.), um Partikelklumpen zu zerstreuen und den Partikelstrom abzubremesen. Der oben an der Kammer angebrachte Macrocarrier (Plastik-Sterilfilterhalter, 13 mm, Gelman Sciences, Swinney, UK) wurde je Schuss mit 5,8 µL DNA-beschichteten Wolframpartikeln (Microcarrier, s.u.) beladen. Mit einer Membranvakuumpumpe (Vacuubrand, Wertheim) wurde der Druck um 0,9 bar in der Kammer reduziert und die Wolframpartikel mit 9 bar Heliumgasdruck auf die Oberfläche des Pflanzengewebes geschossen. Sofort danach wurde die Kammer belüftet. Zur Markierung transformierter Zellen wurden die Blätter mit dem Plasmid (pGFP; Vektor auf pUC18-Basis, CaMV 35S-Promoter/Terminator-Kassette mit insertiertem GFP-Gen; Schweizer P et al. (1999) *Mol Plant Microbe Interact* 12:647-54; zur Verfügung gestellt von Dr. P. Schweizer, Institut für Pflanzengenetik IPK, Gatersleben, Deutschland) beschossen. Vor dem Schießen eines anderen Plasmids wurde der Macrocarrier jeweils gründlich mit Wasser gereinigt. Nach vierstündiger

30

35

40

- Inkubation nach dem Beschuß bei leicht geöffneten Petrischalen, RT und Tageslicht wurden die Blätter mit 100 Konidien/mm<sup>2</sup> des Echten Gerstenmehltaupilzes (Rasse A6; *Blumeria graminis* f.sp. hordei Mehltau A6) inokuliert und für weitere 40 h unter gleichen Bedingungen inkubiert. Anschließend wurde die Penetration ausgewertet. Das Ergebnis (z.B. die Penetrationseffizienz, definiert als prozentualer Anteil angegriffener Zellen, die ein mit reifem Haustorium und einer Sekundärhyphae ("secondary elongating hyphae"), wurde mittels Fluoreszenz- und Lichtmikroskopie analysiert. Eine Inokulation mit 150 Conidia/mm<sup>2</sup> ergibt eine Angriffsfrequenz von ca. 50 % der transformierten Zellen. Für jedes einzelne Experiment wurde eine minimale Anzahl von 100 Interaktionsstellen ausgewertet. Transformierte (GFP exprimierende) Zellen wurden unter Anregung mit blauem Licht identifiziert. Drei verschiedene Kategorien von transformierten Zellen konnten unterschieden werden:
- 1 Penetrierte Zellen, die ein leicht erkennbares Haustorium beinhalten. Eine Zelle mit mehr als einem Haustorium wurde als eine Zelle gewertet.
  2. Zellen, die durch ein Pilz-Appressorium zwar angegriffen wurden, aber kein Haustorium beinhalten. Eine Zelle die mehrfach von Bgh angegriffen wurden, aber kein Haustorium enthält, wurde als eine Zelle gewertet.
  3. Zellen die nicht durch Bgh angegriffen sind.
- Stomatazellen und Stomatanebenzellen wurden von der Bewertung ausgeschlossen. Oberflächenstrukturen von Bgh wurden mittels Lichtmikroskopie oder Fluoreszenzfärbung des Pilzes mit 0,3 % Calcofluor (w/v in Wasser) für 30 sec analysiert. Die Entwicklung des Pilzes kann leicht durch Fluoreszenzmikroskopie nach Anfärbung mit Calcofluor evaluiert werden. In BI1-dsRNA transformierten Zellen entwickelt der Pilz zwar ein primäres und ein appressoriales Keimschlauch ("Germ-Tube") aber kein Haustorium. Haustoriumausbildung ist eine Vorbedingung für die Bildung einer Sekundärhyphae.
- Die Penetrationseffizien (Penetrationsraten) errechnet sich als Anzahl der penetrierten Zellen durch Anzahl der attackierten Zellen multipliziert mit 100.

Die Penetrationseffizienz dient der Bestimmung des  
Suszeptibilität von Zellen, die mit pGY-BI1 transfiziert sind im  
Vergleich zu Zellen die mit einer Leervektorkontrolle  
transformiert sind (Fig. 10). Es wurde beobachtet, dass die BI1  
5 Überexpression die Penetrationshäufigkeit von Bgh signifikant  
erhöht (Fig. 10). In sechs unabhängigen Experimenten bewirkte  
die Überexpression in der suszeptiblen Gerstensorte Ingrid eine  
signifikante Erhöhung der durchschnittlichen  
10 Penetrationseffizienz (PE) von 47 % auf 72 % (165 % der  
Kontrollen) bei Zellen die BI1 überexprimieren im Vergleich zu  
Zellen, die mit Leervektor transformiert wurden (Kontrolle)  
(Fig. 10).

15 Ferner wurden epidermale Zellen der Bgh-resistenten mlo5-Gerste  
mit dem BI1 Überexpressionskonstrukt pGY-1 wie oben beschrieben  
transient transformiert. Der mlo5-Genotyp in einem Pallas bzw.  
Ingrid Hintergrund zeigt eine geringfügige Anfälligkeit gegen  
Bgh. In 7 unabhängigen Experimenten wurde in Kontrollpflanzen  
(Transformation mit Leervektor und GFP-Vektor) eine  
20 Penetrationseffizienz von minimal 0 bis maximal 11 % gefunden.  
Überraschenderweise ergab eine BI1 Überexpression (pGY-BI1) eine  
nahezu vollständige Rekonstitution der suszeptiblen Phänotyps,  
d.h. es erfolgte ein nahezu kompletter Bruch der mlo-Resistenz.  
Die durchschnittliche Penetrationseffizienz von Bgh auf Ingrid-  
25 mlo5 und Pallas-mlo5 Blattsegmenten steigt von 4 % auf 23 %,   
bzw. von 6 % auf 33 % (Fig. 11). Dies bedeutet einen relativen  
Anstieg der Penetration auf 520 % bzw. 510 % der Kontrollen.  
Desweiteren erhöhte die Überexpression von BI1 im Gerste cv  
Manchuria die Anfälligkeit gegen das Weizenpathogen *Blumeria*  
30 *graminis* f.sp. *tritici* in drei unabhängigen Experimenten von 0  
bis 4 % auf 19 bis 27 % (Fig. 13).



## Patentansprüche

- 5 1. Verfahren zur Erzeugung oder Erhöhung der Resistenz gegen mindestens einen biotischen oder abiotischen Streßfaktor in Pflanzen, wobei nachfolgende Arbeitsschritte umfasst sind
- 10 a) Erhöhung der Proteinmenge oder Funktion mindestens eines Bax Inhibitor-1 (BI1) Proteins in mindestens einem pflanzlichen Gewebe mit der Maßgabe, dass die Expression in der Blattepidermis im wesentlichen unverändert bleibt, und
- 15 b) Auswahl der Pflanzen, bei denen im Vergleich zur Ausgangspflanze eine Resistenz gegen mindestens einen biotischen oder abiotischen Streßfaktor besteht oder erhöht ist.
- 20 2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der Streßfaktor ein pflanzliches Pathogen ist.
- 25 3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei der Streßfaktor ein nekrotrophes oder hemibiotrophes Pathogen ist.
- 30 4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei das BI-1 Protein mindestens eine Sequenz umfaßt, die eine Homologie von mindestens 50% aufweist zu mindestens einem BI1-Konsensusmotiv ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
- 35 a) H(L/I)KXVY,  
b) AXGA(Y/F)XH,  
c) NIGG,  
d) P(V/P)(Y/F)E(E/Q)(R/Q)KR,  
e) (E/Q)G(A/S)S(V/I)GPL,  
f) DP(S/G)(L/I)(I/L),  
g) V(G/A)T(A/S)(L/I)AF(A/G)CF(S/T),  
h) YL(Y/F)LGG,  
i) L(L/V)SS(G/W)L(S/T)(I/M)L(L/M)W, und  
40 j) DTGX(I/V)(I/V)E.
- 45 5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei das BI-Protein kodiert wird durch ein Polypeptid, das mindestens eine Sequenz umfaßt ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

## 2

- a) den Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32, und
- 5 b) Sequenzen, die eine Identität von mindestens 50% zu einer der Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 aufweisen,
- 10 c) Sequenzen die mindestens eine Teilsequenz von mindestens 10 zusammenhängenden Aminosäureresten einer der Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 umfassen.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei die Erhöhung der Proteinmenge oder Funktion mindestens eines BI1-Proteins durch rekombinante Expression des besagten BI1-Proteins unter Kontrolle eines wurzel-, knollen- oder mesophyll-spezifischen Promotors realisiert wird.
- 15 7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, umfassend
- 20 (a) stabile Transformation einer pflanzlichen Zelle mit einer rekombinanten Expressionskassette enthalten eine für ein BI-Protein kodierende Nukleinsäuresequenz in funktioneller Verknüpfung mit einem gewebespezifischen Promotor, wobei der Promotor im wesentlichen keine Aktivität in der Blattepidermis aufweist und wobei der Promotor in Bezug auf die besagte das BI-Protein kodierende Nukleinsäuresequenz heterolog ist.
- 25 (b) Regeneration der Pflanze aus der pflanzlichen Zelle, und
- 30 (c) Expression besagter für ein BI-Protein kodierende Nukleinsäuresequenz in einer Menge und für eine Zeit hinreichend um eine Streß- und/oder Pathogenresistenz in besagter Pflanze zu erzeugen oder zu erhöhen.
- 35 8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die Pflanze aus den monokotyledonen und dikotyledonen Pflanzen ausgewählt ist.
- 40 9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei die Pflanze ausgewählt ist aus der Gruppe der monokotyledonen Pflanzen bestehend aus Weizen, Hafer, Hirse, Gerste, Roggen, Mais, Reis, Buchweizen, Sorghum, Triticale, Dinkel, Leinsa-

men oder Zuckerrohr.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei die Pflanze einen mlo-resistenten Phänotyp aufweist.

11. Polypeptidsequenz kodierend für BI1 Protein umfassend mindestens eine Sequenz ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus

a) den Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 28, 30 oder 32,

b) Sequenzen die eine Homologie von mindestens 90%, bevorzugt mindestens 95%, besonders bevorzugt mindestens 98% zu einer der Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 28, 30 oder 32 aufweisen, und

c) Sequenzen die mindestens 10, bevorzugt mindestens 20, besonders bevorzugt mindestens 30 zusammenhängende Aminosäuren einer der Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 28, 30 oder 32 umfassen.

12. Nukleinsäuresequenz kodierend für eine Polypeptidsequenz gemäß Anspruch 11.

13. Rekombinante Expressionskassette enthalten eine für ein BI-Protein kodierende Nukleinsäuresequenz in funktioneller Verknüpfung mit einem gewebespezifischen Promotor, wobei der Promotor im wesentlichen keine Aktivität in der Blattepidermis aufweist und wobei der Promotor in Bezug auf die besagte das BI-Protein kodierende Nukleinsäuresequenz heterolog ist.

14. Rekombinante Expressionskassette nach Anspruch 13, wobei

a) das BI1-Protein wie in einem der Ansprüche 4, 5 oder 11 definiert ist, und/oder

b) der gewebespezifische Promotor ausgewählt ist aus der Gruppe der wurzel-, knollen- oder mesophyll-spezifischen Promotoren.

15. Rekombinanter Vektor enthaltend eine Expressionskassette gemäß einem der Ansprüche 13 oder 14.

16. Rekombinanter Organismus enthaltend mindestens eine Expressionskassette gemäß einem der Ansprüche 13 oder 14 und/oder

mindestens einen Vektor gemäß Anspruch 15.

- 5 17. Rekombinanter Organismus nach Anspruch 17 ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Bakterien, Hefen, nicht-menschlichen Tieren und Pflanzen.
- 10 18. Rekombinanter Organismus nach Anspruch 16 oder 17, ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzen bestehend aus Weizen, Hafer, Hirse, Gerste, Roggen, Mais, Reis, Buchweizen, Sorghum, Triticale, Dinkel, Leinsamen, Zuckerrohr, Raps, Kresse, Arabidopsis, Kohllarten, Soja, Alfalfa, Erbse, Bohnengewächsen, Erdnuß, Kartoffel, Tabak, Tomate, Aubergine, Paprika, Sonnenblume, Tagetes, Salat, Calendula, Melone, Kürbis und Zucchini.
- 15 19. Rekombinanter Organismus nach einem der Ansprüche 16 bis 18, wobei der Organismus eine Pflanze ist, die zusätzlich einen mlo-resistenten Phänotyp aufweist.

# Verfahren zur Erhöhung der Resistenz gegen Streßfaktoren in Pflanzen

## Zusammenfassung

5

Die Erfindung betrifft Verfahren zur Erzeugung oder Erhöhung der Resistenz gegen mindestens einen biotischen oder abiotischen Streßfaktor in Pflanzen, bevorzugt gegen pflanzliche Pathogene, durch Erhöhung der Expression mindestens eines Bax-Inhibitor 1 (BI1) Proteins in mindestens einem pflanzlichen Gewebe mit der Maßgabe, dass die Expression in der Blattepidermis im wesentlichen unverändert bleibt. Die Erfindung betrifft ferner rekombinante Expressionskassetten und Vektoren, die eine für ein BI-Protein kodierende Nukleinsäuresequenz unter Kontrolle eines gewebespezifischen Promotors umfassen, wobei der Promotor im wesentlichen keine Aktivität in der Blattepidermis aufweist. Die Erfindung betrifft ferner mit besagten Expressionskassetten oder Vektoren transformierte rekombinante Pflanzen, davon abgeleitete Kulturen, Teile oder rekombinantes Vermehrungsgut, sowie die Verwendung derselben zur Herstellung von Nahrungs-, Futtermitteln, Saatgut, Pharmazeutika oder Feinchemikalien.

10

15

20

1

AtBI-1	(1)	-----MDAFSSFFDSQPGS---	RSWSYDSLKNFRQISPAVQNH LKR
BnBI-1	(1)	-----MDSFSSFFDSQPGS---	RSWSYDSLKNLRQISPSVQNH LKR
GmBI2	(1)	-----RLQAMDAFNSFFDS-----	RNRWNYDTLKNFRQISPVVQNH LKQ
GmBI3	(1)	ITKTIRFDSLFSMDTFFKSPSSSSSR	WSYDTLKNFREISPLVQNH IKL
HVBI-1	(1)	-----MDAFYSTS---	SAAASGWGHDSLKNFRQISPAVQSH LKL
NtBI-1	(1)	-----MESCTSFNSQSASS-	RNRWSYDSLKNFRQISPFVQTH LKK
OsBI-1	(1)	-----MDAFYSTSSAYGAAASGWGYD	SLKNFRQISPAVQSH LKL
TaBI11	(1)	-----	-----
TaBI18	(1)	-----FSGTFRNSRSDDFVLCELQREL	PRCRDATLTV
TaBI5 neu	(1)	-----	-----VAMPGR
ZmBI14	(1)	-----	-----
ZmBI16	(1)	-----	-----
ZmBI33	(1)	-----	-----
ZmBI8	(1)	-----	-----
Consensus	(1)		F S W YDSLKN R ISP VQ HLK

100

51

AtBI-1	(39)	VYLTLCALVASAFGAYLHVLWNIGGILT	TIGCIGTMIWLLSCPPYEHQK
BnBI-1	(39)	VYLTLCALVASAFGAYLHVLWNIGGILT	TIGCFGSMIWLLSCPPYEQQK
GmBI2	(40)	VYFTLCFAVVAAGAYLHVLWNIGGFLT	TVACMGSSFLLSTPPFEERK
GmBI3	(51)	VYFTLCFAVVAAGAYLHVLWNIGGFLT	TLASIGSMFWLLSTPPFEQK
HVBI-1	(37)	VYLTLCFALASSAVGAYLHIALNIGGML	TMLACVGTIAWMFVSVPYEERK
NtBI-1	(41)	VYLSLCCALVASAAGAYLHILWNIGGL	TTLGCVGSIVWLMPLYEEQK
OsBI-1	(40)	VYLTLCVALAASAVGAYLHVALNIGGML	TMLGCVGSIAWLFSVPVFEERK
TaBI11	(1)	-----	-----
TaBI18	(33)	VYVIPIVGRIKSAAGAYLHIALNIGGML	TMLACIGTIAWMFVSVPYEERK
TaBI5 neu	(7)	RFRLTYALPGLICRGCLPAHCPEHWRD	ADNARVYRNHRLDVLGASLRGEE
ZmBI14	(1)	-----	-----GSIWLFSVPVYEERK
ZmBI16	(1)	-----WNIGVRLTMLGCIGSIDWL	FSVPVYEERK
ZmBI33	(1)	-----WNIGGTLTMLGCVGSIAWL	FSVPVYEERK
ZmBI8	(1)	-----	-----
Consensus	(51)	VY TLC AL ASA GAYLHV NIGG LT	LGCIGSI WL S PVYEERK

150

101

AtBI-1	(89)	RLSLLFVSAVLEGASVGPLIKVAIDVD	PSILITAFVGTAFVCFSAAM
BnBI-1	(89)	RLSLLFVSAVLEGASVGPLIKVAIDVD	PSILITAFVGTAFVCFSGAAM
GmBI2	(90)	RVTLMLAASLFQGSIGPLIDLAIHIDP	SLIFSAFVGTALAFACFSGAAL
GmBI3	(101)	RLSLLMASALFQGASIGPLIDLAFADP	GLIIGAFVATSLAFACFSAVAL
HVBI-1	(87)	RFGLLMGAALLEGASVGPLIELAIDFD	PSILVTGFVGTAFVCFSGAAI
NtBI-1	(91)	RIALLMAAALFKGASIGPLIELAIDFD	PSIVIGAFVGCFAVCFSGAAM
OsBI-1	(90)	RFGILLAAALLEGASVGPLIKLAVDFD	SSILVTAFVGTAFVCFGFTCAAI
TaBI11	(1)	-----	-----AAI
TaBI18	(83)	RFGLLMGAALLEGASVGPLIELAIDFD	PSILVTGFVGTAFVCFSGAAI
TaBI5 neu	(57)	EVWAADGCSLLEGASVGPLIELAIDFD	PSILVTGFVGTAFVCFSGAAM
ZmBI14	(17)	RYWLLMAAALLEGASVGPLIKLAVEFD	PSILVTAFVGTAFVCFSGAAM
ZmBI16	(30)	RYGLLMAAALLEGASVGPLVKLAVEFD	PSILVTAFVGTAFVCFSGAPW
ZmBI33	(30)	RYGLLMAAALLEGASVGPLVKLAVEFD	PSILVTAFVGTAFVCFSGAAI
ZmBI8	(1)	-----VIDLSRILVTAFVGTAFV	CFSGAAM
Consensus	(101)	R LLMAAALLEGASVGPLI LAIDFD	PSILVTAFVGTAFVCFSGAAI

Fig. 1a

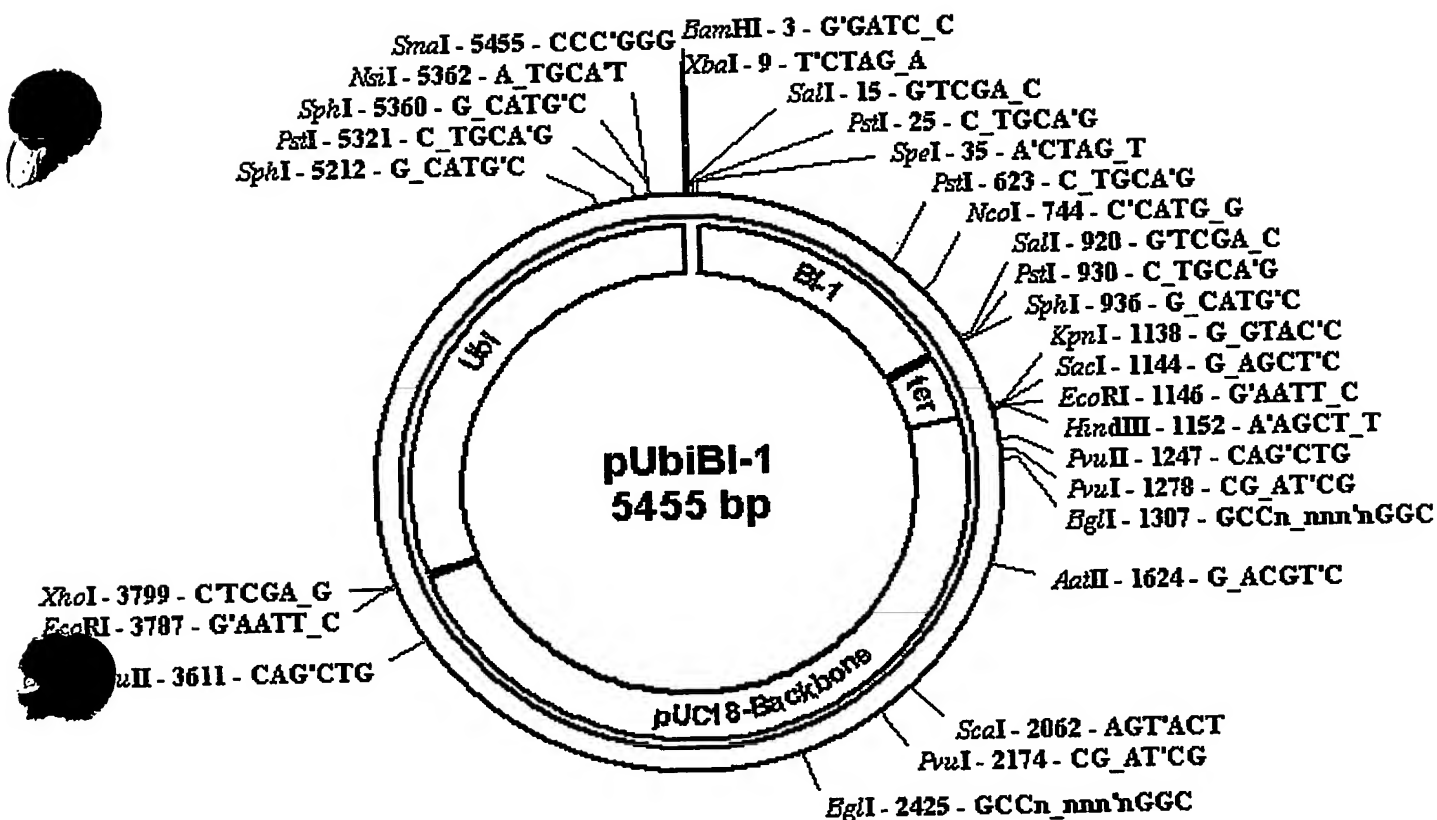
		151	200
AtBI-1	(139)	LARRREYLYLGGLLSSGLSMLMWLQFASSIFG-GSASIFKFELYFGLLIF	
BnBI-1	(139)	LARRREYLYLGGLLSSGLSMLMWLQFASSIFG-GSASIFKFELYFGLLIF	
GmBI2	(140)	VARRREYLYLGGLVSSGLSILLWLHFASSIFG-GSTALFKFELYFGLLVF	
GmBI3	(151)	VARRREYLYLGGLLSSWLSILMWLHSDSSLFG-GSIALFKFELYFGLLVF	
HVBI-1	(137)	IAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFVTSIFGHSS-GSFMFEVYFGLLIF	
NtBI-1	(141)	VARRREYLYLGGLLSSGLSILFWLHFASSIFG-GSMALFKFELYFGLLVF	
OsBI-1	(140)	VAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFAASIFGHST-GSFMFEVYFGLLIF	
TaBI11	(4)	IAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFATSIFGHSS-GSFMFEVYFGLLIF	
TaBI18	(133)	IAKRREYLYLGGLLSSG-----LTIL	
TaBI5 neu	(107)	IAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFATSIFGHSS-GSFMFEVYFGLLIF	
ZmBI14	(67)	VAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFAASIFGHQSTSSFMFEVYFGLLIF	
ZmBI16	(80)	VARRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQLAASIF-GHSATSFMMFEVYFGLLIF	
ZmBI33	(80)	WQAR-EYLYLGCSRRGSPSCSGCSSPPSS--ALRNSFMFEVYFGLLIL	
ZmBI8	(29)	IAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFATSIFGHTS-ATFMFEVYFGLLVF	
Consensus	(151)	VAKRREYLYLGGLLSSGLSILLWLQFASSIFG S ASFMFEVYFGLLIF	
		201	250
AtBI-1	(188)	VGVMVVDTQEIIIEKAHLGDMDYVKHSLTLFTDFVAVFVRILIIIMLKNSAD	
BnBI-1	(188)	VGVMVVDTQDIIEKAHLGDMDYVKHSLTLFTDFVAVFVRVLIIMLKNSAD	
GmBI2	(189)	VGVIIVDTQEIVERAHLGDL DYVKHALTLFTDLVAVFVRILVIMLKNSTE	
GmBI3	(200)	VGVIIVDTQEII ERAHFGDL DYVKHALTLFTDLAAIFVRILIIIMLKNSSE	
HVBI-1	(186)	LGYMVYDTQEII ERAHHGDMDYIKHALTLFTDFVAVLVRVLIIMLKNA GD	
NtBI-1	(190)	VGYIIFDTQDIIEKAHLGDL DYVKHALTLFTDFVAVFVRILIIIMLKNASD	
OsBI-1	(189)	LGYMVYDTQEII ERAHHGDMDYIKHALTLFTDFVAVLVRILVIMLKNASD	
TaBI11	(53)	LGYMVYDTQEII ERAHHGDMDYIKHALTLFTDFVAVLVRILIIIMLKNA GD	
TaBI18	(154)	L-----	
TaBI5 neu	(156)	LGYMVYDTQEII ERAHHGDMDYIKHALTLFTDFVAVLVRVLI ILLKNAAD	
ZmBI14	(117)	LGYMVYDTQEIV ERAHHG-----	
ZmBI16	(129)	LGYVVYDT-----	
ZmBI33	(127)	LG-----	
ZmBI8	(78)	LGYMVFD TQEII ERAHRGDMDYIKHALTLFTDFVAVLVRILVIMMKNAQE	
Consensus	(201)	LGYMVYDTQEII ERAH GDMDYIKHALTLFTDFVAV VRILIIIMLKNA D	
		251	300
AtBI-1	(238)	KEEKKKKRRN-----GDVK-I-LYGCYRVWPL-RYYLLALSIGDQTCF	
BnBI-1	(238)	KEDKKKKRRN-----D-KVRKKAK-SGCYVCFKK-----KRVG	
GmBI2	(239)	RNEKKKKRRD-----	
GmBI3	(250)	RNEKKKKRRD--ADRPTRAQASLQ-FSLWRIHN-----LFR-CWSLV-	
HVBI-1	(236)	KSEDKKKKRKG-----S-----	
NtBI-1	(240)	KEEKKKKRRN----CISGYSKTL-L-NLAFSCS---TSVDLRQVCC--FG	
OsBI-1	(239)	KSEEKKRKKRS-ELLFPLCT-EKTTAAIASTYDRAALQLGFMVNTSSFA	
TaBI11	(103)	KSEDKKKKRKR S-----	
TaBI18	(155)	-----	
TaBI5 neu	(206)	KVGGQEEEEEEKS-----	
ZmBI14	(135)	-----	
ZmBI16	(137)	-----	
ZmBI33	(129)	-----	
ZmBI8	(128)	KSQDEKKRK-----	
Consensus	(251)	K E KKKRR	

**Fig.1b**

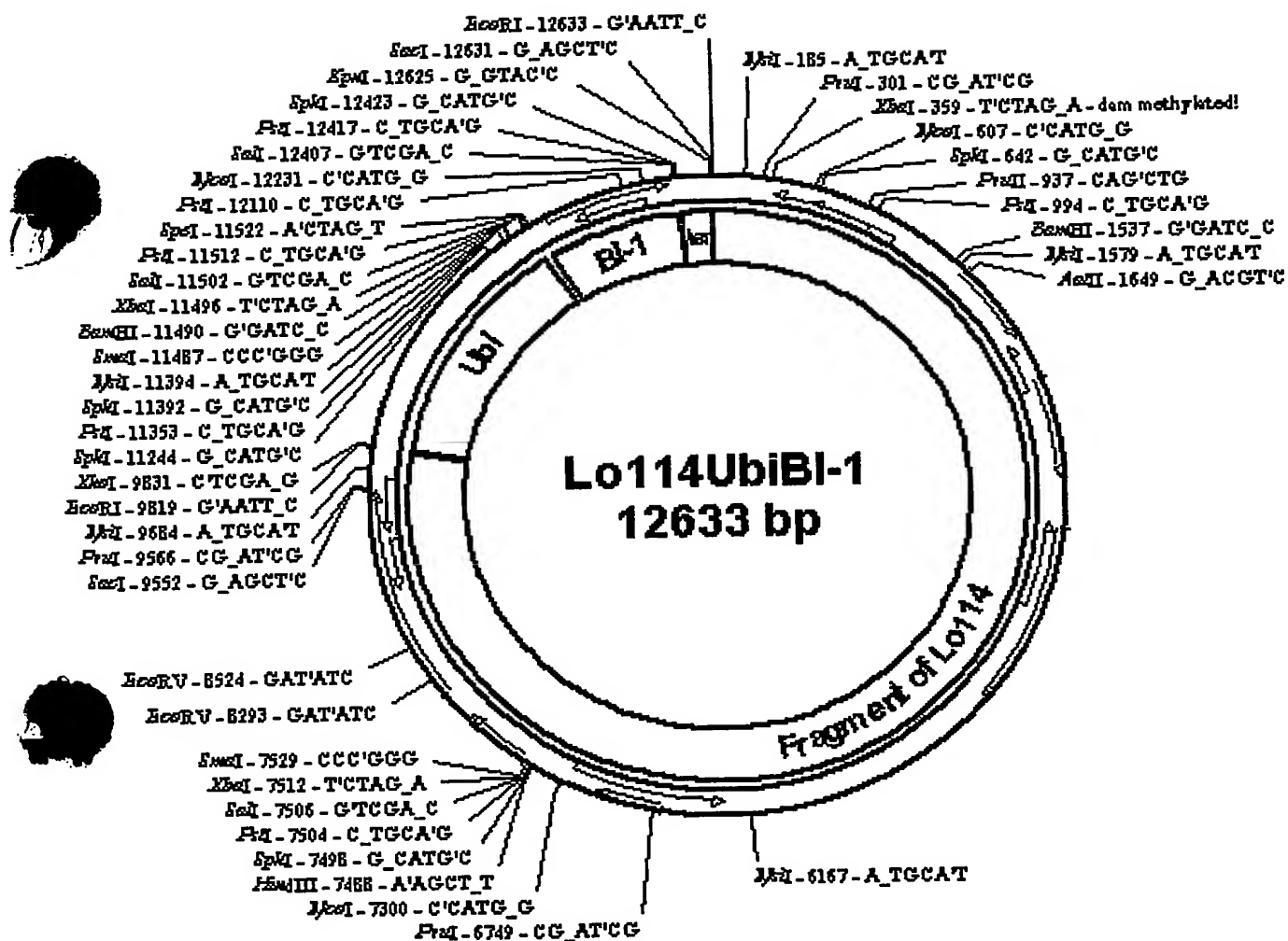
		301		350
AtBI-1	(278)	H-KG-SACFTSAQVPSSDCK-----	LECCSSFHKLLFFKSL	
BnBI-1	(269)	VISTDMIALVFFTCLEQFW-----	QHTLRICVFLLVTPDCEWI	
GmBI2	(249)	-----	-----	
GmBI3	(288)	LVSIVFAVMVNVRI SFKHLHMYLPIS-CVV-HHTLV-KKKKKKKKKKKKK		
HVBI-1	(248)	-----	-----	
NtBI-1	(279)	NASD-AARLCYAAACQCGYGGT-MVLF----	PKHTIK-HACLHYIDNLRVY	
OsBI-1	(287)	FC-YGVNLLRFVVVVALQILACYMTRIFL-WWSR-SKRENTSSFATNLFA		
Consensus	(301)			
		351		400
AtBI-1	(312)	VLLIASYQAKNNVGK-----	SCLNFLKCVHFRKKKKKKKKK-----	
BnBI-1	(307)	SILKLC-KLSVGS-----	-----	
GmBI2	(249)	-----	-----	
GmBI3	(335)	KKKKKXXXXXXXXXXXXX--XXXXXGVCGLRYSRHSSNH-EGSLW-PGLC-		
HVBI-1	(248)	-----	-----	
NtBI-1	(322)	YLFLLPFAVLGCS-LYS-FSVMLDHLLS-RLISHIDGRNENSHRRPNLKF		
OsBI-1	(334)	FW-LMMILSPKKKK-----	-----	
Consensus	(351)			
		401		450
AtBI-1	(348)	-----	-----	
BnBI-1	(319)	-----	-----	
GmBI2	(249)	-----	-----	
GmBI3	(380)	ACIDTVH-FGCNLCANS-YNVE-FI-EK-EEEEERLIG-PIAMCRVIWFV		
HVBI-1	(248)	-----	-----	
NtBI-1	(369)	TEAQL-----	-----	
Consensus	(401)			
		451		500
GmBI3	(424)	ENT-LAV-KLLVPLCS--LAMCLL-W-MSGFLLNIFICIC--S-YIV-TS		
Consensus	(451)			
		501	512	
GmBI3	(464)	FLGLKKEKKKKK		
Consensus	(501)			

**Fig. 1c**

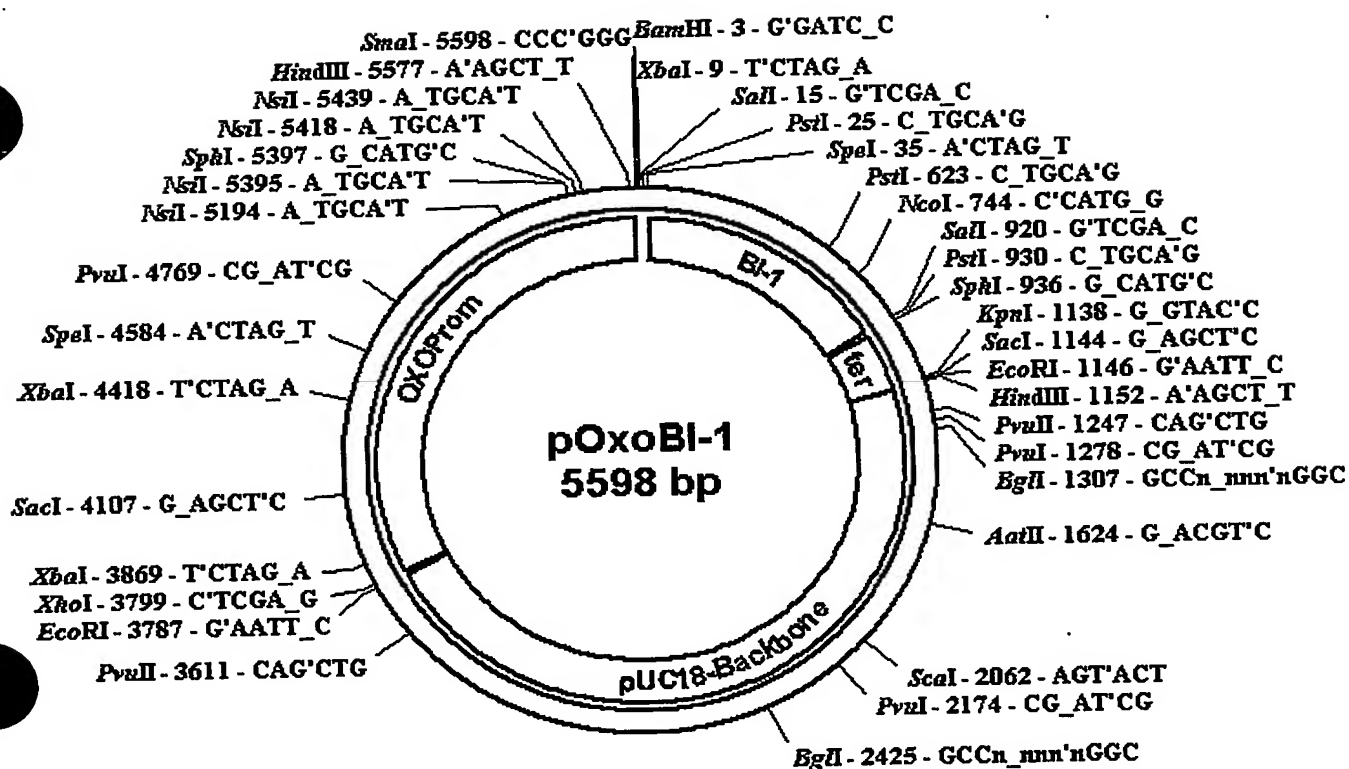




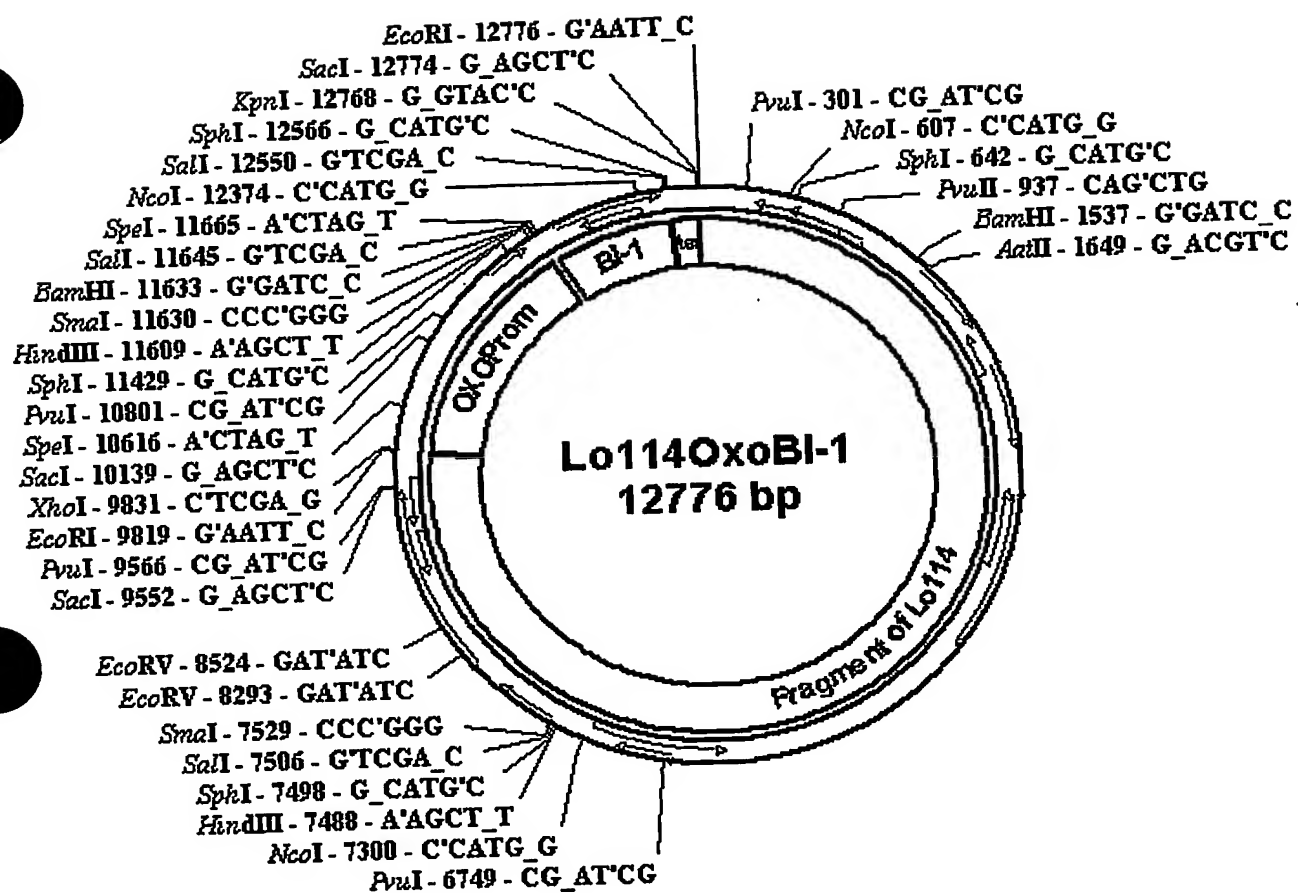
**Fig. 2**



**Fig. 3**



**Fig.4**



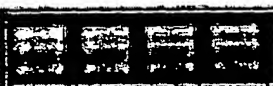
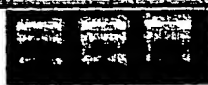
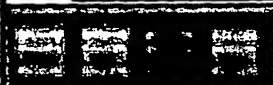

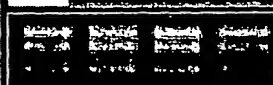
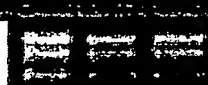
**Fig. 5**

BEST AVAILABLE COPY





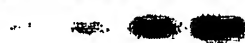

<i>H. vul.</i>	MDAFYSTSS---AAASGEGHISLKNFRQISPAVCSHLKVYLTLCPALASSAVGAYLHIA	57
<i>O. sat.</i>	MDAFYSTSSAYGAARSQGYISLKNFRQISPAVCSHLKVYLTLCPALASSAVGAYLHVA	60
<i>A. tha.</i>	MDAFSSFFDS-QPGSRSSYSISLKNFRQISPAVCNHLKRVYLTCCALVASMFCAYLHVL	59
<i>H. sap.</i>	MNIFDRKIN-----FEALLKESHITPSTQCHLKRIVYASFALCMFVAAGAYVHMV	50
<i>H. vul.</i>	LN--IGGCHLTHLACVGTIAMHFSVPVYEE--RRKFGLLMGAALLEGASVGPLIELATDFD	113
<i>O. sat.</i>	LN--IGGCHLTHLGCVGSIAMLFVVFVFE--RRKFGILLAAALLEGASVGPLIKLAVDFD	116
<i>A. tha.</i>	UN--IGGCHLTTIGCIGTHIMULLSCPPYEH--QKRLSLLFVSAMVLEGASVGPLTKVATDVD	115
<i>H. sap.</i>	THFIQAGLLSALGSLILMIMLMATEHSHETEOKRLGLLAGFDFLTGVGLCHALEFCIAVN	110
<i>H. vul.</i>	PSILVTGAVGTATAFGCFSGAMIIARRREYLYLGCLLSSGLSILLMLQFVTSIFGHESGS	173
<i>O. sat.</i>	SSILVTAFVGTATAFGCFSTCAMIVARRREYLYLGCLLSSGLSILLMLQFAASIFGHSTGS	176
<i>A. tha.</i>	PSILITAFVGTATAFVCFSAAMLARREYLYLGCLLSSGLSMLMLQFAASSIFGGSASI	175
<i>H. sap.</i>	PSILPTAFMGTAAMIFTCTLSALYARRRESYFLGGILMSALSLLSSLGNVFFG-SIWP	169
<i>H. vul.</i>	FMFEVYFGLLIFLCYHVVYDTQCIIEERAHHGDMEDYIKHALTLFTDFVAVLVRLIIMLKNA	233
<i>O. sat.</i>	FMFEVYFGLLIFLCYHVVYDTQCIIEERAHHGDMEDYIKHALTLFTDFVAVLVRLIIMLKNA	236
<i>A. tha.</i>	FKFELYFGLLITVGYHVVDTQCIIEERAHHGDMEDYIKHALTLFTDFVAVLVRLIIMLKNA	235
<i>H. sap.</i>	EQANLYVGLVVMCGFVLVDTQLIIEERAHHGDMEDYIKHALTLFTDFVAVLVRLIIMLKNA	229
<i>H. vul.</i>	GDESEDKKKRKRGS	247
<i>O. sat.</i>	SDSESEKKRKKRS-	249
<i>A. tha.</i>	ADR-EEKKKKRKN-	247
<i>H. sap.</i>	KDE---KEKK---	237

Fig. 6

**rRNAs**

	$\emptyset$	<b>Pallas</b>
	inoculated	
	$\emptyset$	<b>BCP <i>Mla12</i></b>
	inoculated	
	$\emptyset$	<b>BCP <i>mlo5</i></b>
	inoculated	
<div>0   1   4   7</div> <hr/> <div>dai</div>		

**BI-1**

	$\emptyset$	<b>Pallas</b>
	inoculated	
	$\emptyset$	<b>BCP <i>Mla12</i></b>
	inoculated	
	$\emptyset$	<b>BCP <i>mlo5</i></b>
	inoculated	
<div>0   1   4   7</div> <hr/> <div>dai</div>		

**Fig.7**

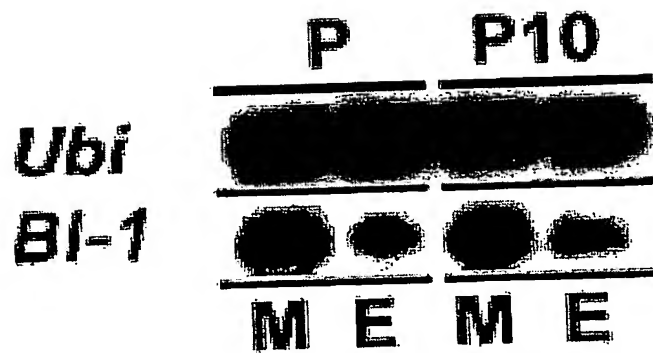
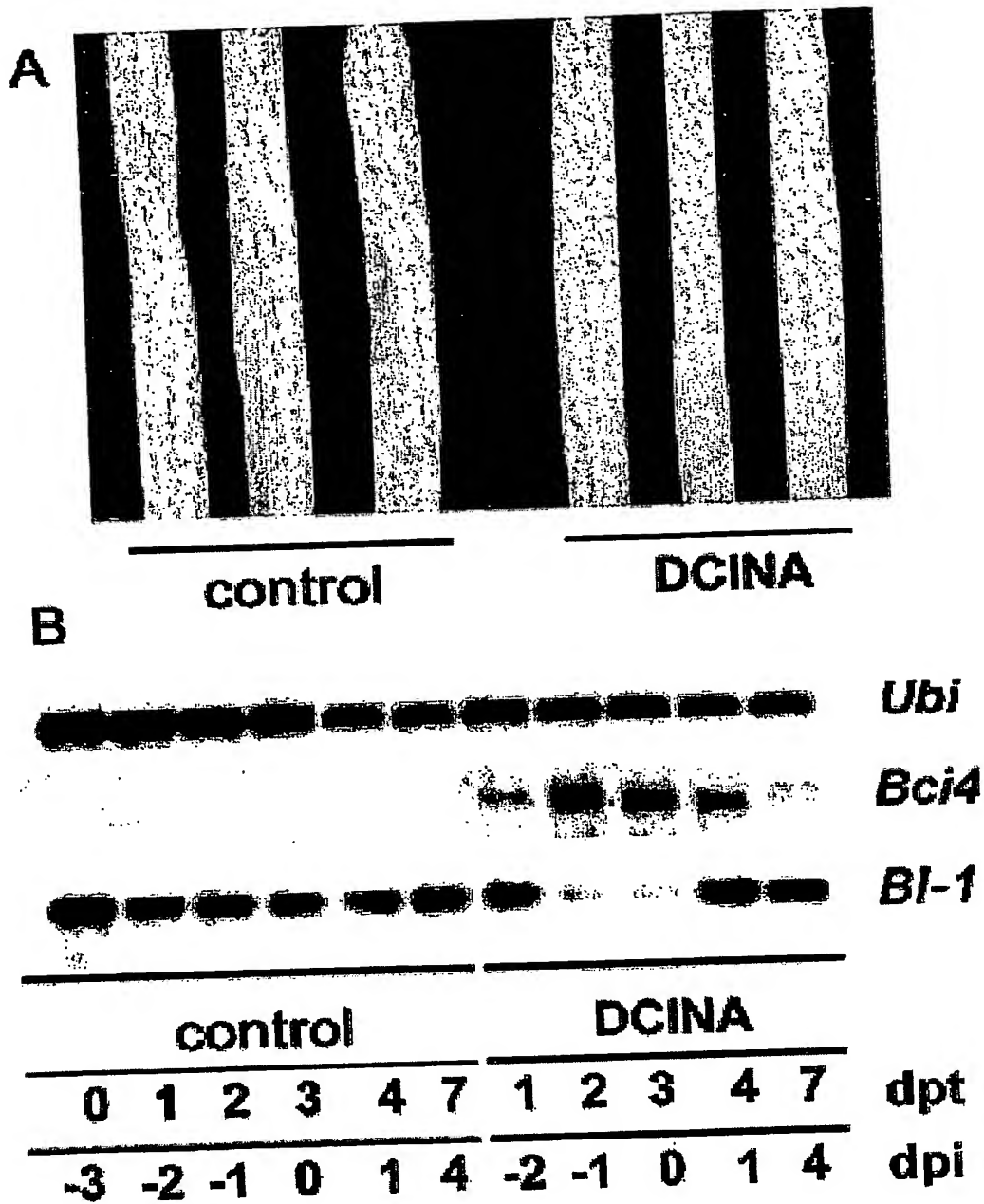
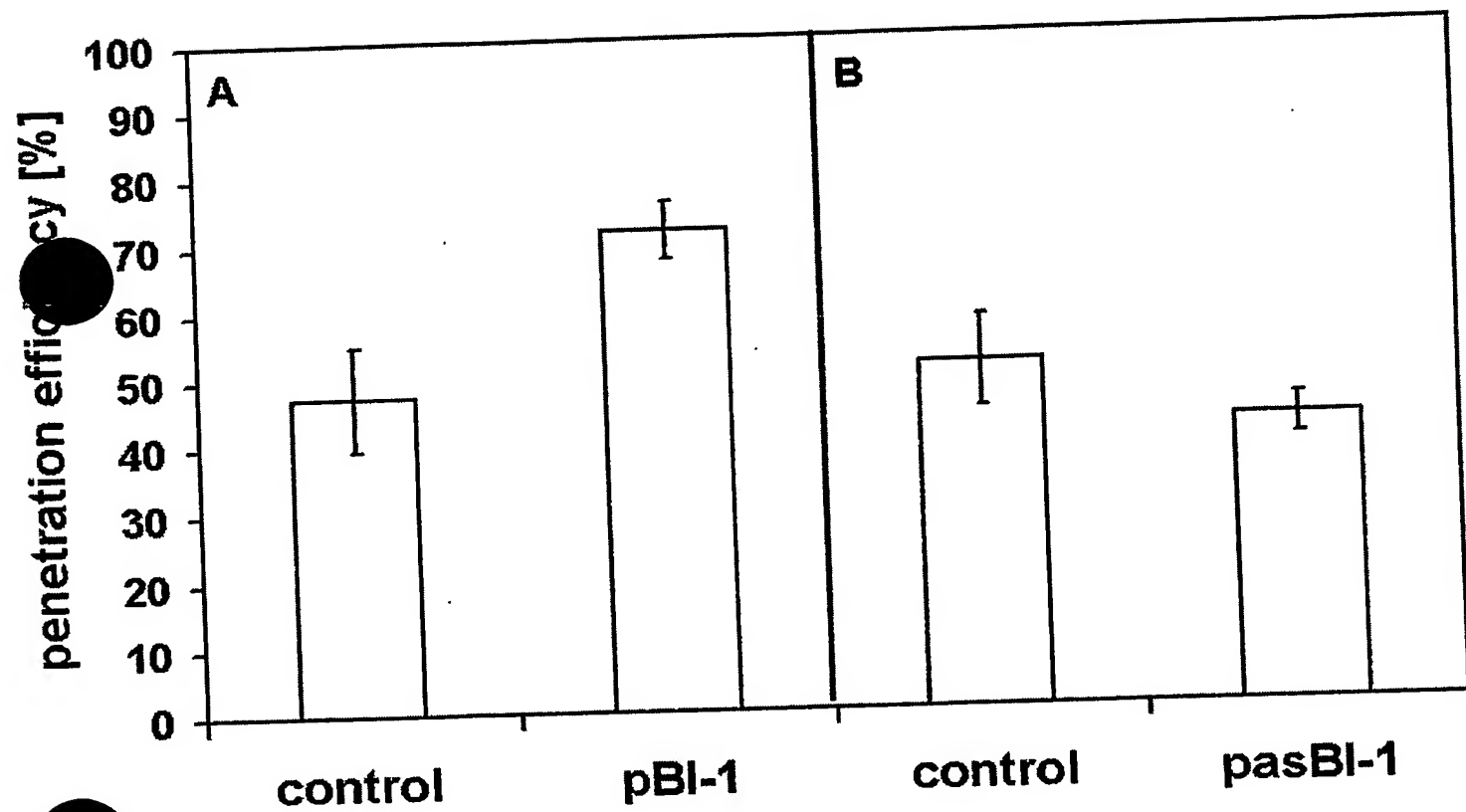


Fig. 8

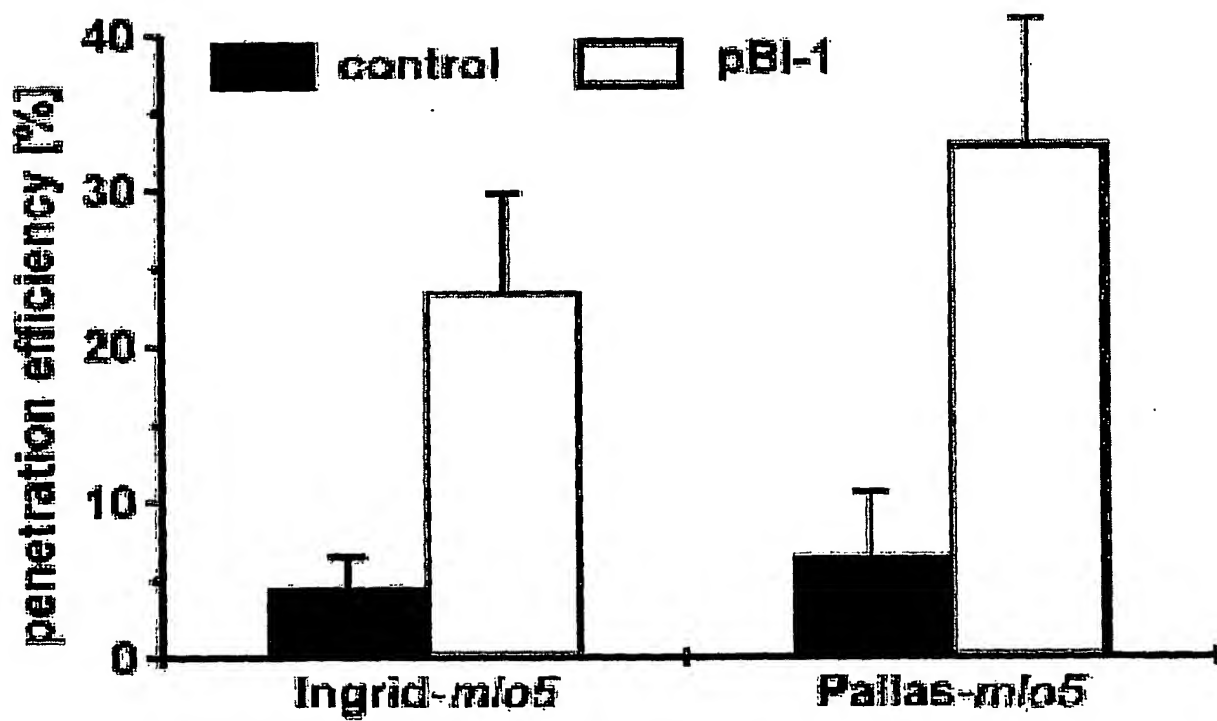


**Fig. 9**





**Fig.10**



**Fig.11**

BEST AVAILABLE COPY

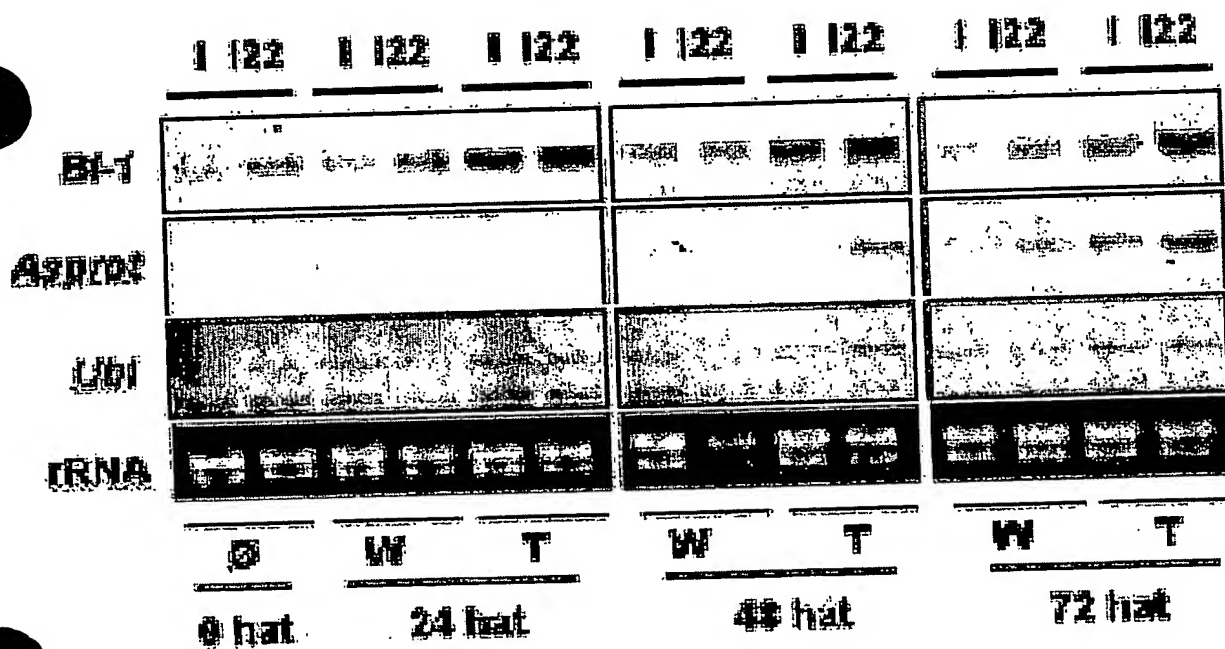
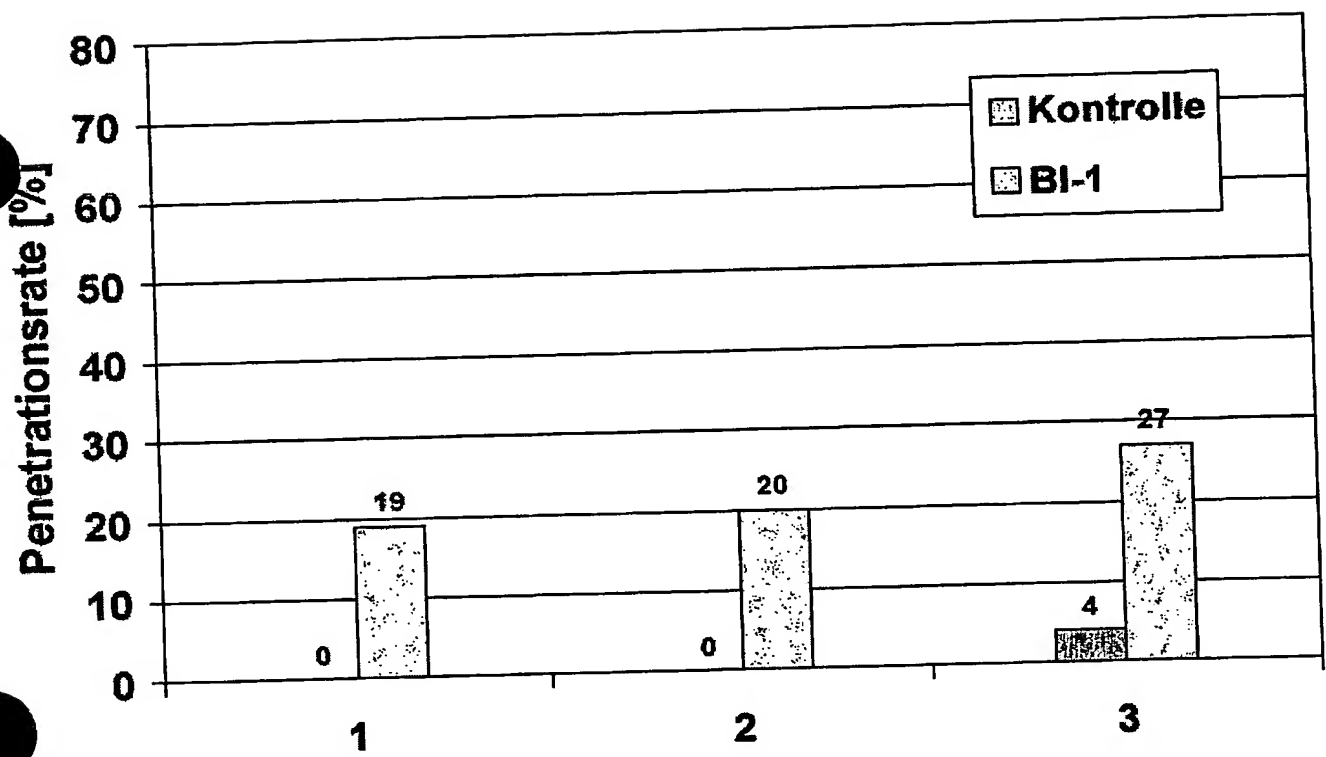


Fig. 12



**Fig. 13**

## SEQUENZPROTOKOLL

&lt;110&gt; BASF Plant Science GmbH

5 <120> Verfahren zur Erhöhung der Resistenz gegen  
Stressfaktoren in Pflanzen

&lt;130&gt; AE20030082

10 <140>  
<141>

&lt;160&gt; 36

15 &lt;170&gt; PatentIn Ver. 2.1

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 744

&lt;212&gt; DNA

20 &lt;213&gt; Hordeum vulgare

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(741)

25 &lt;223&gt; coding for BII-protein

&lt;400&gt; 1

atg	gac	gcc	ttc	tac	tcg	acc	tcg	tcg	gcg	gcg	gcg	agc	ggc	tgg	ggc	48
Met	Asp	Ala	Phe	Tyr	Ser	Thr	Ser	Ser	Ala	Ala	Ala	Ser	Gly	Trp	Gly	
1				5					10					15		

cac	gac	tcc	ctc	aag	aac	ttc	cgc	cag	atc	tcc	ccc	gcc	gtg	cag	tcc	96
His	Asp	Ser	Leu	Lys	Asn	Phe	Arg	Gln	Ile	Ser	Pro	Ala	Val	Gln	Ser	
			20					25					30			

cac	ctc	aag	ctc	gtt	tac	ctg	act	cta	tgc	ttt	gca	ctg	gcc	tca	tct	144
His	Leu	Lys	Leu	Val	Tyr	Leu	Thr	Leu	Cys	Phe	Ala	Leu	Ala	Ser	Ser	
		35					40					45				

gcc	gtg	ggg	gct	tac	cta	cac	att	gcc	ctg	aac	atc	ggc	ggg	atg	ctg	192
Ala	Val	Gly	Ala	Tyr	Leu	His	Ile	Ala	Leu	Asn	Ile	Gly	Gly	Met	Leu	
		50				55					60					

aca	atg	ctc	gct	tgt	gtc	gga	act	atc	gcc	tgg	atg	ttc	tcg	gtg	cca	240
Thr	Met	Leu	Ala	Cys	Val	Gly	Thr	Ile	Ala	Trp	Met	Phe	Ser	Val	Pro	
65					70					75					80	

gtc	tat	gag	gag	agg	aag	agg	ttt	ggg	ctg	ctg	atg	ggg	gca	gcc	ctc	288
Val	Tyr	Glu	Glu	Arg	Lys	Arg	Phe	Gly	Leu	Leu	Met	Gly	Ala	Ala	Leu	
				85				90						95		

ctg	gaa	ggg	gct	tcg	gtt	gga	cct	ctg	att	gag	ctt	gcc	ata	gac	ttt	336
Leu	Glu	Gly	Ala	Ser	Val	Gly	Pro	Leu	Ile	Glu	Leu	Ala	Ile	Asp	Phe	
			100				105						110			

gac	cca	agc	atc	ctc	gtg	aca	ggg	ttt	gtc	gga	acc	gcc	atc	gcc	ttt	384
Asp	Pro	Ser	Ile	Leu	Val	Thr	Gly	Phe	Val	Gly	Thr	Ala	Ile	Ala	Phe	
		115					120					125				

ggg	tgc	ttc	tct	ggc	gcc	gcc	atc	atc	gcc	aag	cgc	agg	gag	tac	ctg	432
Gly	Cys	Phe	Ser	Gly	Ala	Ala	Ile	Ile	Ala	Lys	Arg	Arg	Glu	Tyr	Leu	
		130				135					140					

tac	ctc	ggg	ggc	ctg	ctc	tcg	tct	ggc	ctg	tcg	atc	ctg	ctc	tgg	ctg	480
Tyr	Leu	Gly	Gly	Leu	Leu	Ser	Ser	Gly	Leu	Ser	Ile	Leu	Leu	Trp	Leu	
		145			150					155					160	

[AE-Nr.] REF/... Datum

[ggf. Fig/Seq]

## 2

5 cag ttt gtc acg tcc atc ttt ggc cac tcc tct ggc agc ttc atg ttt 528  
 Gln Phe Val Thr Ser Ile Phe Gly His Ser Ser Gly Ser Phe Met Phe  
 165 170 175

5 gag gtt tac ttt ggc ctg ttg atc ttc ctg ggg tac atg gtg tac gac 576  
 Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp  
 180 185 190

10 acg cag gag atc atc gag agg gcg cac cat ggc gac atg gac tac atc 624  
 Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His His Gly Asp Met Asp Tyr Ile  
 195 200 205

15 aag cac gcc ctc acc ctc ttc acc gac ttt gtt gcc gtc ctc gtc cga 672  
 Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Leu Val Arg  
 210 215 220

20 gtc ctc atc atc atg ctc aag aac gca ggc gac aag tcg gag gac aag 720  
 Val Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ala Gly Asp Lys Ser Glu Asp Lys  
 225 230 235 240

5 aag aag agg aag agg ggg tcc tga 744  
 Lys Lys Arg Lys Arg Gly Ser  
 245

5 <210> 2  
 <211> 247  
 <212> PRT  
 30 <213> Hordeum vulgare

35 <400> 2  
 Met Asp Ala Phe Tyr Ser Thr Ser Ser Ala Ala Ala Ser Gly Trp Gly  
 1 5 10 15

35 His Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Ala Val Gln Ser  
 20 25 30

40 His Leu Lys Leu Val Tyr Leu Thr Leu Cys Phe Ala Leu Ala Ser Ser  
 35 40 45

40 Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Ile Ala Leu Asn Ile Gly Gly Met Leu  
 50 55 60

45 Thr Met Leu Ala Cys Val Gly Thr Ile Ala Trp Met Phe Ser Val Pro  
 65 70 75 80

50 Val Tyr Glu Glu Arg Lys Arg Phe Gly Leu Leu Met Gly Ala Ala Leu  
 85 90 95

50 Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Glu Leu Ala Ile Asp Phe  
 100 105 110

55 Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Gly Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe  
 115 120 125

55 Gly Cys Phe Ser Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu  
 130 135 140

60 Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu  
 145 150 155 160

65 Gln Phe Val Thr Ser Ile Phe Gly His Ser Ser Gly Ser Phe Met Phe  
 165 170 175

65 Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp

## 3

180 185 190

Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His His Gly Asp Met Asp Tyr Ile  
195 200 205

5 Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Leu Val Arg  
210 215 220

10 Val Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ala Gly Asp Lys Ser Glu Asp Lys  
225 230 235 240

Lys Lys Arg Lys Arg Gly Ser  
245

15

<210> 3  
<211> 1067  
<212> DNA  
20 <213> Arabidopsis thaliana

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(741)  
25 <223> coding for BI1-protein

<400> 3

30 atg gat gcg ttc tct tcc ttc ttc gat tct caa cct ggt agc aga agc 48  
Met Asp Ala Phe Ser Ser Phe Phe Asp Ser Gln Pro Gly Ser Arg Ser  
1 5 10 15

tgg agc tat gat tct ctt aaa aac ttc cgt cag att tct cca gcc gtt 96  
Trp Ser Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Ala Val  
20 25 30

35 cag aat cat ctt aaa cgg gtt tat ttg acc tta tgt tgt gct ctt gtg 144  
Gln Asn His Leu Lys Arg Val Tyr Leu Thr Leu Cys Cys Ala Leu Val  
35 40 45

40 gcg tct gcc ttt gga gct tac ctc cat gtg ctc tgg aat atc ggc ggt 192  
Ala Ser Ala Phe Gly Ala Tyr Leu His Val Leu Trp Asn Ile Gly Gly  
50 55 60

45 att ctt aca acg att gga tgt att gga act atg att tgg ctc ctt tca 240  
Ile Leu Thr Thr Ile Gly Cys Ile Gly Thr Met Ile Trp Leu Leu Ser  
65 70 75 80

50 tgt cct cct tat gaa cac caa aaa agg ctt tct ctt ctg ttt gtg tct 288  
Cys Pro Pro Tyr Glu His Gln Lys Arg Leu Ser Leu Leu Phe Val Ser  
85 90 95

gct gtt ctt gaa ggt gct tct gtt ggc ccc ttg atc aaa gtg gca att 336  
Ala Val Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Lys Val Ala Ile  
100 105 110

55 gat gtt gac cca agc atc ctt atc act gca ttt gtt gga act gcg ata 384  
Asp Val Asp Pro Ser Ile Leu Ile Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala Ile  
115 120 125

60 gcg ttt gtc tgt ttc tca gca gca gca atg tta gca aga cgc agg gag 432  
Ala Phe Val Cys Phe Ser Ala Ala Ala Met Leu Ala Arg Arg Arg Glu  
130 135 140

65 tat ctc tac ctt gga gga ctg ctt tca tct ggc ttg tct atg cta atg 480  
Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Met Leu Met  
145 150 155 160

5 tgg ctc cag ttt gcc tct tca atc ttt ggt ggc tct gca tct atc ttt 528  
 Trp Leu Gln Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Ala Ser Ile Phe  
 165 170 175

5 aag ttt gag ttg tac ttt gga ctt ttg atc ttt gtg gga tac atg gtg 576  
 Lys Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Val Gly Tyr Met Val  
 180 185 190

10 gtg gac aca caa gag att ata gaa aag gca cac ctc ggt gac atg gac 624  
 Val Asp Thr Gln Glu Ile Ile Glu Lys Ala His Leu Gly Asp Met Asp  
 195 200 205

15 tat gta aaa cat tcg ttg acc ctt ttc act gac ttt gta gct gtg ttt 672  
 Tyr Val Lys His Ser Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Phe  
 210 215 220

20 gtt cgg att ctc atc ata atg ttg aag aac tca gca gat aaa gaa gag 720  
 Val Arg Ile Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ser Ala Asp Lys Glu Glu  
 225 230 235 240

aag aag aag aaa agg aga aac tgaggggatg taaagtaaata ttaactttat 771  
 Lys Lys Lys Lys Arg Arg Asn  
 245

25 gggtgttatc gtgtgtggcc actttgaaga tattacttgt tagcactctc tattgggtgac 831  
 cagacatggt tccactaaaa aggatctgct tgtttcactt ctgcacaagt accatcttca 891

30 gattgtaaat gactcgagtg ttgttcttct tttcataaac ttttgttctt taagagtttg 951  
 gttctactga ttgcatctta ccaagctaag aataatgtag gaaaatgata atcctgttta 1011

35 aattttctaa aatgtgtgca tttcagaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1067

<210> 4  
 <211> 247  
 <212> PRT  
 40 <213> Arabidopsis thaliana

<400> 4  
 Met Asp Ala Phe Ser Ser Phe Phe Asp Ser Gln Pro Gly Ser Arg Ser  
 1 5 10 15

45 Trp Ser Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Ala Val  
 20 25 30

50 Gln Asn His Leu Lys Arg Val Tyr Leu Thr Leu Cys Cys Ala Leu Val  
 35 40 45

Ala Ser Ala Phe Gly Ala Tyr Leu His Val Leu Trp Asn Ile Gly Gly  
 50 55 60

55 Ile Leu Thr Thr Ile Gly Cys Ile Gly Thr Met Ile Trp Leu Leu Ser  
 65 70 75 80

Cys Pro Pro Tyr Glu His Gln Lys Arg Leu Ser Leu Leu Phe Val Ser  
 85 90 95

60 Ala Val Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Lys Val Ala Ile  
 100 105 110

65 Asp Val Asp Pro Ser Ile Leu Ile Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala Ile  
 115 120 125



## 5

Ala Phe Val Cys Phe Ser Ala Ala Ala Met Leu Ala Arg Arg Arg Glu  
 130 135 140

5 Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Met Leu Met  
 145 150 155 160

Trp Leu Gln Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Ala Ser Ile Phe  
 165 170 175

10 Lys Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Val Gly Tyr Met Val  
 180 185 190

Val Asp Thr Gln Glu Ile Ile Glu Lys Ala His Leu Gly Asp Met Asp  
 195 200 205

15 Tyr Val Lys His Ser Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Phe  
 210 215 220

20 Val Arg Ile Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ser Ala Asp Lys Glu Glu  
 225 230 235 240

Lys Lys Lys Lys Arg Arg Asn  
 245

25

<210> 5  
 <211> 1160  
 <212> DNA  
 30 <213> Nicotiana tabacum

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(747)  
 35 <223> coding for BI1-protein

<400> 5  
 atg gag tct tgc aca tcg ttc ttc aat tca cag tcg gcg tcg tct cgc 48  
 Met Glu Ser Cys Thr Ser Phe Phe Asn Ser Gln Ser Ala Ser Ser Arg  
 1 5 10 15

40 aat cgc tgg agt tac gat tct ctt aag aac ttc cgc cag atc tct ccc 96  
 Asn Arg Trp Ser Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro  
 20 25 30

45 ttt gtt caa act cat ctc aaa aag gtc tac ctt tca tta tgt tgt gct 144  
 Phe Val Gln Thr His Leu Lys Lys Val Tyr Leu Ser Leu Cys Cys Ala  
 35 40 45

50 tta gtt gct tcg gct gct gga gct tac ctt cac att ctt tgg aac att 192  
 Leu Val Ala Ser Ala Ala Gly Ala Tyr Leu His Ile Leu Trp Asn Ile  
 50 55 60

55 ggt ggc tta ctt acg aca ttg gga tgt gtg gga agc ata gtg tgg ctg 240  
 Gly Gly Leu Leu Thr Thr Leu Gly Cys Val Gly Ser Ile Val Trp Leu  
 65 70 75 80

60 atg gcg aca cct ctg tat gaa gag caa aag agg ata gca ctt ctg atg 288  
 Met Ala Thr Pro Leu Tyr Glu Glu Gln Lys Arg Ile Ala Leu Leu Met  
 85 90 95

gca gct gca ctg ttt aaa gga gca tct att ggt cca ctg att gaa ttg 336  
 Ala Ala Ala Leu Phe Lys Gly Ala Ser Ile Gly Pro Leu Ile Glu Leu  
 100 105 110

65 gct att gac ttt gac cca agc att gtg atc ggt gct ttt gtt ggt tgt 384

## 6

Ala Ile Asp Phe Asp Pro Ser Ile Val Ile Gly Ala Phe Val Gly Cys  
 115 120 125

5 gct gtg gct ttt ggt tgc ttc tca gct gct gcc atg gtg gca agg cgc 432  
 Ala Val Ala Phe Gly Cys Phe Ser Ala Ala Ala Met Val Ala Arg Arg  
 130 135 140

10 aga gag tac ttg tat ctt gga ggt ctt ctt tca tct ggt ctc tct atc 480  
 Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile  
 145 150 155 160

15 ctt ttc tgg ttg cac ttc gcg tcc tcc att ttt ggt ggt tct atg gcc 528  
 Leu Phe Trp Leu His Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Met Ala  
 165 170 175

20 ttg ttc aag ttc gag gtt tat ttt ggg ctc ttg gtg ttt gtg ggc tat 576  
 Leu Phe Lys Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Val Phe Val Gly Tyr  
 180 185 190

25 atc att ttt gac acc caa gat ata att gag aag gca cac ctt ggg gat 624  
 Ile Ile Phe Asp Thr Gln Asp Ile Ile Glu Lys Ala His Leu Gly Asp  
 195 200 205

30 ttg gac tac gtg aag cat gct ctg acc ctc ttt aca gat ttt gtt gct 672  
 Leu Asp Tyr Val Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala  
 210 215 220

35 gtt ttt gtg cga ata tta atc ata atg ctg aag aat gca tcc gac aag 720  
 Val Phe Val Arg Ile Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ala Ser Asp Lys  
 225 230 235 240

40 gaa gag aag aag aag aag agg aga aac taatgcataa gcggttattc 767  
 Glu Glu Lys Lys Lys Lys Arg Arg Asn  
 245

45 aaagactctg taactctaga atctggcatt ttcttgttca taaacttctg tagaccttcg 827  
 acaagtatgt tgtaaatagt ttggtaacgc ctcagattaa gctgcgaggc tctgttatgc 887

50 cgcatgccaa tgtggttatg gtggtacata gatgggttttg tttccgaagc ataccatcaa 947  
 ataacatgca tgtttacact atatcgataa cctacgagtg tactacttat ttctgctccc 1007  
 ttttgctgtg ttaggttggt catgattgta tagttgattt tccgttatgt tagaccatct 1067  
 tctttcttga cgtttaattt ctcatattga tgggagaaat gaaaattcac accgtcgccc 1127  
 caacttgttt aagactgagg cgcaattgta gtt 1160

55 <210> 6  
 <211> 249  
 <212> PRT  
 <213> Nicotiana tabacum

60 <400> 6  
 Met Glu Ser Cys Thr Ser Phe Phe Asn Ser Gln Ser Ala Ser Ser Arg  
 1 5 10 15

65 Asn Arg Trp Ser Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro  
 20 25 30

Phe Val Gln Thr His Leu Lys Lys Val Tyr Leu Ser Leu Cys Cys Ala  
 35 40 45

Leu Val Ala Ser Ala Ala Gly Ala Tyr Leu His Ile Leu Trp Asn Ile

7

50 55 60  
 Gly Gly Leu Leu Thr Thr Leu Gly Cys Val Gly Ser Ile Val Trp Leu  
 65 70 75 80  
 5 Met Ala Thr Pro Leu Tyr Glu Glu Gln Lys Arg Ile Ala Leu Leu Met  
 85 90 95  
 10 Ala Ala Ala Leu Phe Lys Gly Ala Ser Ile Gly Pro Leu Ile Glu Leu  
 100 105 110  
 Ala Ile Asp Phe Asp Pro Ser Ile Val Ile Gly Ala Phe Val Gly Cys  
 115 120 125  
 15 Ala Val Ala Phe Gly Cys Phe Ser Ala Ala Ala Met Val Ala Arg Arg  
 130 135 140  
 Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile  
 145 150 155 160  
 20 Leu Phe Trp Leu His Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Met Ala  
 165 170 175  
 Leu Phe Lys Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Val Phe Val Gly Tyr  
 180 185 190  
 25 Ile Ile Phe Asp Thr Gln Asp Ile Ile Glu Lys Ala His Leu Gly Asp  
 195 200 205  
 30 Leu Asp Tyr Val Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala  
 210 215 220  
 Val Phe Val Arg Ile Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ala Ser Asp Lys  
 225 230 235 240  
 35 Glu Glu Lys Lys Lys Lys Arg Arg Asn  
 245  
 40 <210> 7  
 <211> 1056  
 <212> DNA  
 <213> Oryza sativa  
 45 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(747)  
 <223> coding for BI1-protein  
 50 <400> 7  
 atg gac gcc ttc tac tcg acc tcg tcg gcg tac gga gcg gcg gcg agc 48  
 Met Asp Ala Phe Tyr Ser Thr Ser Ser Ala Tyr Gly Ala Ala Ala Ser  
 1 5 10 15  
 55 ggc tgg ggc tac gac tcg ctg aag aac ttc cgc cag atc tcc ccc gcc 96  
 Gly Trp Gly Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Ala  
 20 25 30  
 60 gtc cag tcc cac ctc aag ctc gtt tac ctg aca cta tgc gtc gcc ctg 144  
 Val Gln Ser His Leu Lys Leu Val Tyr Leu Thr Leu Cys Val Ala Leu  
 35 40 45  
 65 gct gcg tcg gcg gtg ggc gca tac ctg cac gtc gcc ttg aac atc ggc 192  
 Ala Ala Ser Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Val Ala Leu Asn Ile Gly  
 50 55 60

	ggg	atg	ttg	act	atg	ctc	ggg	tgc	gtg	ggg	agc	atc	gcc	tgg	ttg	ttc	240
	Gly	Met	Leu	Thr	Met	Leu	Gly	Cys	Val	Gly	Ser	Ile	Ala	Trp	Leu	Phe	
	65					70					75					80	
5	tcg	gtg	cct	gtc	ttt	gag	gag	agg	aag	agg	ttt	ggg	att	ctc	ttg	gcc	288
	Ser	Val	Pro	Val	Phe	Glu	Glu	Arg	Lys	Arg	Phe	Gly	Ile	Leu	Leu	Ala	
					85					90					95		
10	gct	gcc	ctg	ctg	gaa	ggg	gct	tca	gtt	ggg	cct	ctg	atc	aag	ctt	gct	336
	Ala	Ala	Leu	Leu	Glu	Gly	Ala	Ser	Val	Gly	Pro	Leu	Ile	Lys	Leu	Ala	
				100					105					110			
15	gta	gac	ttt	gac	tca	agc	att	ctc	gta	aca	gca	ttt	gtt	gga	act	gcc	384
	Val	Asp	Phe	Asp	Ser	Ser	Ile	Leu	Val	Thr	Ala	Phe	Val	Gly	Thr	Ala	
			115					120					125				
20	att	gca	ttt	ggg	tgc	ttc	act	tgc	gct	gcc	atc	gtt	gcc	aag	cgt	agg	432
	Ile	Ala	Phe	Gly	Cys	Phe	Thr	Cys	Ala	Ala	Ile	Val	Ala	Lys	Arg	Arg	
		130					135					140					
25	gag	tac	ctc	tac	ctt	ggt	ggt	ttg	ctc	tct	tct	ggc	ctc	tcc	atc	ctg	480
	Glu	Tyr	Leu	Tyr	Leu	Gly	Gly	Leu	Leu	Ser	Ser	Gly	Leu	Ser	Ile	Leu	
	145					150				155						160	
30	ctc	tgg	ctg	cag	ttt	gcc	gca	tcc	atc	ttt	ggc	cac	tcc	acc	ggc	agc	528
	Leu	Trp	Leu	Gln	Phe	Ala	Ala	Ser	Ile	Phe	Gly	His	Ser	Thr	Gly	Ser	
				165						170					175		
35	ttc	atg	ttt	gag	gtt	tac	ttt	ggc	ctg	ttg	atc	ttc	ctg	ggg	tac	atg	576
	Phe	Met	Phe	Glu	Val	Tyr	Phe	Gly	Leu	Leu	Ile	Phe	Leu	Gly	Tyr	Met	
				180					185					190			
40	gtg	tat	gac	acg	cag	gag	atc	atc	gag	agg	gct	cac	cac	ggg	gac	atg	624
	Val	Tyr	Asp	Thr	Gln	Glu	Ile	Ile	Glu	Arg	Ala	His	His	Gly	Asp	Met	
			195					200					205				
45	gac	tac	atc	aag	cac	gca	ctc	acc	ctc	ttc	act	gac	ttc	gtg	gcc	gtc	672
	Asp	Tyr	Ile	Lys	His	Ala	Leu	Thr	Leu	Phe	Thr	Asp	Phe	Val	Ala	Val	
		210					215					220					
50	ctt	gtc	cgg	atc	ctc	gtc	atc	atg	ctc	aag	aac	gcg	tct	gac	aag	tcg	720
	Leu	Val	Arg	Ile	Leu	Val	Ile	Met	Leu	Lys	Asn	Ala	Ser	Asp	Lys	Ser	
		225				230					235					240	
55	gag	gag	aag	aag	agg	aag	aag	agg	tct	tgagagcttc	tcttcccgcct						767
	Glu	Glu	Lys	Lys	Arg	Lys	Lys	Arg	Ser								
				245													
60	ttgcacataa	gaaaaaacca	ccgcggctat	tgectctacg	tattatgaca	gagccgcact											827
	tcaactgggt	tttatgggtga	atacaagtgc	ttttgcattt	tggtgatagc												

## 9

Met Asp Ala Phe Tyr Ser Thr Ser Ser Ala Tyr Gly Ala Ala Ala Ser  
 1 5 10 15  
 5 Gly Trp Gly Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Ala  
 20 25 30  
 Val Gln Ser His Leu Lys Leu Val Tyr Leu Thr Leu Cys Val Ala Leu  
 35 40 45  
 10 Ala Ala Ser Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Val Ala Leu Asn Ile Gly  
 50 55 60  
 Gly Met Leu Thr Met Leu Gly Cys Val Gly Ser Ile Ala Trp Leu Phe  
 65 70 75 80  
 15 Ser Val Pro Val Phe Glu Glu Arg Lys Arg Phe Gly Ile Leu Leu Ala  
 85 90 95  
 20 Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Lys Leu Ala  
 100 105 110  
 Val Asp Phe Asp Ser Ser Ile Leu Val Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala  
 115 120 125  
 25 Ile Ala Phe Gly Cys Phe Thr Cys Ala Ala Ile Val Ala Lys Arg Arg  
 130 135 140  
 Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu  
 145 150 155 160  
 30 Leu Trp Leu Gln Phe Ala Ala Ser Ile Phe Gly His Ser Thr Gly Ser  
 165 170 175  
 35 Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met  
 180 185 190  
 Val Tyr Asp Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His His Gly Asp Met  
 195 200 205  
 40 Asp Tyr Ile Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val  
 210 215 220  
 Leu Val Arg Ile Leu Val Ile Met Leu Lys Asn Ala Ser Asp Lys Ser  
 225 230 235 240  
 45 Glu Glu Lys Lys Arg Lys Lys Arg Ser  
 245  
 50  
 <210> 9  
 <211> 973  
 <212> DNA  
 <213> Brassica napus  
 55  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(741)  
 <223> coding for BII-protein  
 60  
 <400> 9  
 atg gat tca ttc tcg tcc ttc ttc gat tct caa cct ggt agc aga agc 48  
 Met Asp Ser Phe Ser Ser Phe Phe Asp Ser Gln Pro Gly Ser Arg Ser  
 1 5 10 15  
 65 tgg agc tat gat tct ctc aaa aac ctc cgt cag att tct ccc tcc gtc 96

10

	Trp	Ser	Tyr	Asp 20	Ser	Leu	Lys	Asn	Leu	Arg	Gln	Ile	Ser	Pro 30	Ser	Val												
5	cag Gln	aat Asn	cat His	ctc Leu	aag Lys	agg Arg	gtt Val	tat Tyr	ctc Leu	act Thr	ctg Leu	tgt Cys	tgt Cys	gct Ala	ctc Leu	gtt Val	144											
10	gcg Ala	tct Ser	gcg Ala	ttt Phe	gga Gly	gct Ala	tac Tyr	ctc Leu	cac His	gtg Val	ctc Leu	tgg Trp	aac Asn	ata Ile	ggg Gly	ggg Gly	192											
15	att Ile	ctc Leu	act Thr	acc Thr	att Ile	gga Gly	tgc Cys	ttt Phe	gga Gly	agc Ser	atg Met	att Ile	tgg Trp	ctg Leu	ctc Leu	tcc Ser	240											
20	tgt Cys	cct Pro	cct Pro	tat Tyr	gaa Glu	caa Gln	caa Gln	aag Lys	agg Arg	ctt Leu	tcc Ser	ctt Leu	ctg Leu	ttt Phe	ctg Leu	tct Ser	288											
25	gct Ala	gtt Val	ctc Leu	gaa Glu	ggg Gly	gct Ala	tca Ser	gtt Val	ggg Gly	ccc Pro	ttg Leu	atc Ile	aaa Lys	gtg Val	gca Ala	gtt Val	336											
30	gat Asp	ttt Phe	gac Asp	cca Pro	agc Ser	atc Ile	ctc Leu	atc Ile	act Thr	gcg Ala	ttt Phe	gtc Val	gga Gly	act Thr	gcg Ala	ata Ile	384											
35	gcc Ala	ttt Phe	atc Ile	tgt Cys	ttc Phe	tca Ser	ggg Gly	gca Ala	gcg Ala	atg Met	ttg Leu	gca Ala	aga Arg	cgc Arg	aga Arg	gag Glu	432											
40	tac Tyr	ctc Leu	tac Tyr	ctc Leu	gga Gly	gga Gly	ctg Leu	ctt Leu	tca Ser	tct Ser	ggc Gly	ttg Leu	tcc Ser	atg Met	ctt Leu	atg Met	480											
45	tgg Trp	ctt Leu	cag Gln	ttt Phe	gcc Ala	tct Ser	tcc Ser	atc Ile	ttt Phe	ggg Gly	ggc Gly	tct Ser	gca Ala	tcc Ser	atc Ile	ttt Phe	528											
50	aag Lys	ttt Phe	gag Glu	ctc Leu	tac Tyr	ttt Phe	gga Gly	ctc Leu	ttg Leu	atc Ile	ttt Phe	gtg Val	gga Gly	tac Tyr	atg Met	gtg Val	576											
55	gtg Val	gac Asp	act Thr	caa Gln	gat Asp	att Ile	ata Ile	gag Glu	aag Lys	gcc Ala	cac His	ctc Leu	ggg Gly	gac Asp	atg Met	gat Asp	624											
60	tac Tyr	gtg Val	aaa Lys	cat His	tgc Ser	ttg Leu	acc Thr	ctt Leu	ttc Phe	acc Thr	gat Asp	ttt Phe	gta Val	gct Ala	gtg Val	ttt Phe	672											
65	gtt Val	cgt Arg	gtt Val	ctc Leu	atc Ile	att Ile	atg Met	ctg Leu	aag Lys	aac Asn	tgc Ser	gca Ala	gat Asp	aaa Lys	gaa Glu	gat Asp	720											
70	aaa Lys	aag Lys	aag Lys	agg Arg	agg Arg	agg Arg	aac Asn	tgagactaaa				aagtgagaaa				gaaagctaaa		771										
75																		771										
80																		771										
85																		771										
90																		771										
95																		771										
100																		771										
105																		771										
110																		771										
115																												

5 <210> 10  
<211> 247  
<212> PRT  
<213> Brassica napus

10 <400> 10  
Met Asp Ser Phe Ser Ser Phe Phe Asp Ser Gln Pro Gly Ser Arg Ser  
1 5 10 15  
Trp Ser Tyr Asp Ser Leu Lys Asn Leu Arg Gln Ile Ser Pro Ser Val  
20 25 30  
15 Gln Asn His Leu Lys Arg Val Tyr Leu Thr Leu Cys Cys Ala Leu Val  
35 40 45  
Ala Ser Ala Phe Gly Ala Tyr Leu His Val Leu Trp Asn Ile Gly Gly  
50 55 60  
20 Ile Leu Thr Thr Ile Gly Cys Phe Gly Ser Met Ile Trp Leu Leu Ser  
65 70 75 80  
35 Cys Pro Pro Tyr Glu Gln Gln Lys Arg Leu Ser Leu Leu Phe Leu Ser  
85 90 95  
Ala Val Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Lys Val Ala Val  
100 105 110  
30 Asp Phe Asp Pro Ser Ile Leu Ile Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala Ile  
115 120 125  
Ala Phe Ile Cys Phe Ser Gly Ala Ala Met Leu Ala Arg Arg Arg Glu  
130 135 140  
35 Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Met Leu Met  
145 150 155 160  
40 Trp Leu Gln Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Ala Ser Ile Phe  
165 170 175  
Lys Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe Val Gly Tyr Met Val  
180 185 190  
45 Val Asp Thr Gln Asp Ile Ile Glu Lys Ala His Leu Gly Asp Met Asp  
195 200 205  
Tyr Val Lys His Ser Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Phe  
210 215 220  
50 Val Arg Val Leu Ile Ile Met Leu Lys Asn Ser Ala Asp Lys Glu Asp  
225 230 235 240  
55 Lys Lys Lys Arg Arg Arg Asn  
245

60 <210> 11  
<211> 747  
<212> DNA  
<213> Glycine max

65 <220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(744)

## 12

&lt;223&gt; coding for BI1-protein

&lt;400&gt; 11

5 cga ttg caa gca atg gac gcc ttc aat tcc ttc ttc gat tca aga aac 48  
 Arg Leu Gln Ala Met Asp Ala Phe Asn Ser Phe Phe Asp Ser Arg Asn  
 1 5 10 15

10 cga tgg aat tac gat act ctc aaa aac ttc cgt cag att tct ccg gtc 96  
 Arg Trp Asn Tyr Asp Thr Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Val  
 20 25 30

15 gtg cag aat cac ctg aag cag gtt tat ttt act ctg tgt ttt gcc gtg 144  
 Val Gln Asn His Leu Lys Gln Val Tyr Phe Thr Leu Cys Phe Ala Val  
 35 40 45

20 gtt gct gcg gct gtc ggg gct tac ctt cat gtc ctc ttg aac att ggg 192  
 Val Ala Ala Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Val Leu Asn Ile Gly  
 50 55 60

25 ggt ttt ctt act aca gtg gca tgc atg gga agc agc ttt tgg tta ctc 240  
 Gly Phe Leu Thr Thr Val Ala Cys Met Gly Ser Ser Phe Trp Leu Leu  
 65 70 75 80

30 tcc aca cct cct ttt gaa gag agg aag agg gtg act ttg ttg atg gcc 288  
 Ser Thr Pro Pro Phe Glu Glu Arg Lys Arg Val Thr Leu Leu Met Ala  
 85 90 95

35 gca tca ctg ttt cag ggt tcc tct att gga ccc ttg att gat ttg gct 336  
 Ala Ser Leu Phe Gln Gly Ser Ser Ile Gly Pro Leu Ile Asp Leu Ala  
 100 105 110

40 att cat atc gat cca agc ctt atc ttt agt gca ttt gtg gga aca gcc 384  
 Ile His Ile Asp Pro Ser Leu Ile Phe Ser Ala Phe Val Gly Thr Ala  
 115 120 125

45 ttg gcc ttt gca tgc ttc tca gga gca gct ttg gtt gct agg cgt agg 432  
 Leu Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Ala Leu Val Ala Arg Arg Arg  
 130 135 140

50 gag tac ctg tac ctt ggt ggc ttg gtt tct tct gga ttg tcc atc ctt 480  
 Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Val Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu  
 145 150 155 160

55 ctc tgg ttg cac ttt gct tct tcc atc ttt gga ggc tca aca gct ctc 528  
 Leu Trp Leu His Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Thr Ala Leu  
 165 170 175

60 ttt aag ttt gag ttg tac ttt ggg ctt ttg gtg ttt gta ggt tac att 576  
 Phe Lys Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Val Phe Val Gly Tyr Ile  
 180 185 190

65 gta gta gac acc caa gaa ata gtt gag agg gca cac ttg ggc gat ctg 624  
 Val Val Asp Thr Gln Glu Ile Val Glu Arg Ala His Leu Gly Asp Leu  
 195 200 205

70 gac tat gta aag cat gcc ttg acc ttg ttt acc gat ttg gtc gca gtt 672  
 Asp Tyr Val Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Leu Val Ala Val  
 210 215 220

75 ttt gtc cgg att ctt gtt att atg ttg aag aat tcg act gag agg aat 720  
 Phe Val Arg Ile Leu Val Ile Met Leu Lys Asn Ser Thr Glu Arg Asn  
 225 230 235 240

80 gag aag aaa aag aag aga aga gat tga 747  
 Glu Lys Lys Lys Lys Arg Arg Asp  
 245



## 13

5 <210> 12  
<211> 248  
<212> PRT  
<213> Glycine max

10 <400> 12  
Arg Leu Gln Ala Met Asp Ala Phe Asn Ser Phe Phe Asp Ser Arg Asn  
1 5 10 15  
Arg Trp Asn Tyr Asp Thr Leu Lys Asn Phe Arg Gln Ile Ser Pro Val  
20 25 30  
15 Val Gln Asn His Leu Lys Gln Val Tyr Phe Thr Leu Cys Phe Ala Val  
35 40 45  
20 Val Ala Ala Ala Val Gly Ala Tyr Leu His Val Leu Leu Asn Ile Gly  
50 55 60  
25 Gly Phe Leu Thr Thr Val Ala Cys Met Gly Ser Ser Phe Trp Leu Leu  
65 70 75 80  
Ser Thr Pro Pro Phe Glu Glu Arg Lys Arg Val Thr Leu Leu Met Ala  
85 90 95  
Ala Ser Leu Phe Gln Gly Ser Ser Ile Gly Pro Leu Ile Asp Leu Ala  
100 105 110  
30 Ile His Ile Asp Pro Ser Leu Ile Phe Ser Ala Phe Val Gly Thr Ala  
115 120 125  
Leu Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Ala Leu Val Ala Arg Arg Arg  
130 135 140  
35 Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Val Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu  
145 150 155 160  
40 Leu Trp Leu His Phe Ala Ser Ser Ile Phe Gly Gly Ser Thr Ala Leu  
165 170 175  
Phe Lys Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Val Phe Val Gly Tyr Ile  
180 185 190  
45 Val Val Asp Thr Gln Glu Ile Val Glu Arg Ala His Leu Gly Asp Leu  
195 200 205  
Asp Tyr Val Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Leu Val Ala Val  
210 215 220  
50 Phe Val Arg Ile Leu Val Ile Met Leu Lys Asn Ser Thr Glu Arg Asn  
225 230 235 240  
55 Glu Lys Lys Lys Lys Arg Arg Asp  
245

60 <210> 13  
<211> 1510  
<212> DNA  
<213> Glycine max

65 <220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(777)

## 14

&lt;223&gt; coding for BI-1 protein

&lt;400&gt; 13

5	atc acg aaa act ata cga ttc gat tcc ttg ttt tcg atg gac act ttc	48
	Ile Thr Lys Thr Ile Arg Phe Asp Ser Leu Phe Ser Met Asp Thr Phe	
	1 5 10 15	
10	ttc aag tcc cca tct tct tct tct tcg aga agc cgc tgg agt tac gat	96
	Phe Lys Ser Pro Ser Ser Ser Ser Ser Arg Ser Arg Trp Ser Tyr Asp	
	20 25 30	
15	act ctc aag aat ttc cgc gag atc tct ccg ctc gtt cag aat cac atc	144
	Thr Leu Lys Asn Phe Arg Glu Ile Ser Pro Leu Val Gln Asn His Ile	
	35 40 45	
20	aaa ctg gtt tat ttt acg tta tgt tgc gct gtg gtg gct gct gct gtt	192
	Lys Leu Val Tyr Phe Thr Leu Cys Cys Ala Val Val Ala Ala Ala Val	
	50 55 60	
25	gga gct ttc ctt cat gtt ctg tgg aac att ggc ggt ttt ctc acc acg	240
	Gly Ala Phe Leu His Val Leu Trp Asn Ile Gly Gly Phe Leu Thr Thr	
	65 70 75 80	
30	ttg gct tcc att ggg agc atg ttt tgg ttg cta tct aca ccc cct ttt	288
	Leu Ala Ser Ile Gly Ser Met Phe Trp Leu Leu Ser Thr Pro Pro Phe	
	85 90 95	
35	gaa gag caa aag agg ttg tct ctg ttg atg gct tcg gcc ctg ttt cag	336
	Glu Glu Gln Lys Arg Leu Ser Leu Leu Met Ala Ser Ala Leu Phe Gln	
	100 105 110	
40	ggt gct tcc att gga cct ctg att gat ttg gct ttt gcc att gat cct	384
	Gly Ala Ser Ile Gly Pro Leu Ile Asp Leu Ala Phe Ala Ile Asp Pro	
	115 120 125	
45	ggc ctt atc att ggc gca ttt gtg gca act tct ttg gct ttt gct tgc	432
	Gly Leu Ile Ile Gly Ala Phe Val Ala Thr Ser Leu Ala Phe Ala Cys	
	130 135 140	
50	ttt tct gca gta gcc tta gtt gca agg cga agg gag tac ctc tac ctt	480
	Phe Ser Ala Val Ala Leu Val Ala Arg Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu	
	145 150 155 160	
55	ggt ggt ttg ctt tct tct tgg ctt tcc att ctt atg tgg ttg cac tct	528
	Gly Gly Leu Leu Ser Ser Trp Leu Ser Ile Leu Met Trp Leu His Ser	
	165 170 175	
60	gat tcc tct ctc ttt ggg ggc tca att gca ctc ttc aag ttt gag ctg	576
	Asp Ser Ser Leu Phe Gly Gly Ser Ile Ala Leu Phe Lys Phe Glu Leu	
	180 185 190	
65	tac ttt ggg ctt ttg gtg ttt gtg ggc tac gtt ata gta gac act caa	624
	Tyr Phe Gly Leu Leu Val Phe Val Gly Tyr Val Ile Val Asp Thr Gln	
	195 200 205	
70	gaa att att gaa agg gct cac ttt ggt gac ctg gat tat gtg aag cat	672
	Glu Ile Ile Glu Arg Ala His Phe Gly Asp Leu Asp Tyr Val Lys His	
	210 215 220	
75	gca ttg aca ttg ttc act gat ttg gct gca atc ttt gtg cga att ctt	720
	Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Leu Ala Ala Ile Phe Val Arg Ile Leu	
	225 230 235 240	
80	att ata atg ttg aag aat tca tct gag aga aat gag aag aag aag aaa	768
	Ile Ile Met Leu Lys Asn Ser Ser Glu Arg Asn Glu Lys Lys Lys Lys	
	245 250 255	

## 15

```

agg aga gat tagtaggctg accgaccgac tcgagctcag gcttctctac      817
Arg Arg Asp

5  agtaatttag tttgtggaga atacataatt agctgttttag atgatgttgg tcccttgtgt 877
   agttagtttag ctatgtgttt gctgtaatgg taaatgtcag gatttctttt aaacatcttc 937
   atatgtattt gccaatatca taatgtgtcg tataacatca taccttggtt taacacacac 997
10  aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaann nnnnnnnnnn 1057
   nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnngg tgtttgtggg ctacgttata 1117
15  gtagacactc aagtaatcat tgagagggt cactttggtg acctggatta tgtaagcat 1177
   gcattgacac tgttcactga tttggctgca atctttgtgc gaattcttaa tataatgttg 1237
   aataattcat ctaagagaaa tgagaagaag aggaggagag attaataggt tgaccgattg 1297
20  ctatgtgtag agtaatttgg tttgtagaga atacataatt agctgttttag aagttgttgg 1357
   tcccttgtg tagttagtag ttagctatgt gtttgctgta atggtaaatg tcaggatttc 1417
25  ttttaaacat tttcatatgt atttgctaata aatcataata tatagtataa acatcattcc 1477
   ttggttttaa aaaagaaaaa aaaaaaaaaa aaa                                1510

30  <210> 14
   <211> 259
   <212> PRT
   <213> Glycine max

35  <400> 14
   Ile Thr Lys Thr Ile Arg Phe Asp Ser Leu Phe Ser Met Asp Thr Phe
      1          5          10          15

40  Phe Lys Ser Pro Ser Ser Ser Ser Ser Arg Ser Arg Trp Ser Tyr Asp
      20          25          30

   Thr Leu Lys Asn Phe Arg Glu Ile Ser Pro Leu Val Gln Asn His Ile
      35          40          45

45  Lys Leu Val Tyr Phe Thr Leu Cys Cys Ala Val Val Ala Ala Ala Val
      50          55          60

   Gly Ala Phe Leu His Val Leu Trp Asn Ile Gly Gly Phe Leu Thr Thr
      65          70          75          80

50  Leu Ala Ser Ile Gly Ser Met Phe Trp Leu Leu Ser Thr Pro Pro Phe
      85          90          95

   Glu Glu Gln Lys Arg Leu Ser Leu Leu Met Ala Ser Ala Leu Phe Gln
      100         105         110

   Gly Ala Ser Ile Gly Pro Leu Ile Asp Leu Ala Phe Ala Ile Asp Pro
      115         120         125

60  Gly Leu Ile Ile Gly Ala Phe Val Ala Thr Ser Leu Ala Phe Ala Cys
      130         135         140

   Phe Ser Ala Val Ala Leu Val Ala Arg Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu
      145         150         155         160

65  Gly Gly Leu Leu Ser Ser Trp Leu Ser Ile Leu Met Trp Leu His Ser

```

16

165 170 175  
 Asp Ser Ser Leu Phe Gly Gly Ser Ile Ala Leu Phe Lys Phe Glu Leu  
 180 185 190  
 5 Tyr Phe Gly Leu Leu Val Phe Val Gly Tyr Val Ile Val Asp Thr Gln  
 195 200 205  
 10 Glu Ile Ile Glu Arg Ala His Phe Gly Asp Leu Asp Tyr Val Lys His  
 210 215 220  
 Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Leu Ala Ala Ile Phe Val Arg Ile Leu  
 225 230 235 240  
 15 Ile Ile Met Leu Lys Asn Ser Ser Glu Arg Asn Glu Lys Lys Lys Lys  
 245 250 255  
 Arg Arg Asp  
 20  
 <210> 15  
 <211> 651  
 25 <212> DNA  
 <213> Triticum aestivum  
 <220>  
 <221> CDS  
 30 <222> (1)..(651)  
 <223> coding for BI-1 protein  
 <400> 15  
 35 gtc gca atg ccg ggt cga cga ttt cgt ctg acc tat gct ttg cct ggc 48  
 Val Ala Met Pro Gly Arg Arg Phe Arg Leu Thr Tyr Ala Leu Pro Gly 15  
 1 5 10  
 40 ctc atc tgc cgt ggg tgc tta cct gca cat tgc cct gaa cat tgg cgg 96  
 Leu Ile Cys Arg Gly Cys Leu Pro Ala His Cys Pro Glu His Trp Arg 30  
 20 25 30  
 gat gct gac aat gct cgc gtg tat cgg aac cat cgc ctg gat gtt ctc 144  
 Asp Ala Asp Asn Ala Arg Val Tyr Arg Asn His Arg Leu Asp Val Leu 45  
 35 40 45  
 45 ggt gcc agt cta cga gga gag gaa gag gtt tgg gct gct gat ggg tgc 192  
 Gly Ala Ser Leu Arg Gly Glu Glu Glu Val Trp Ala Ala Asp Gly Cys 60  
 50 55  
 50 agc ctc ctg gaa ggg gct tca gtt gga cct ctg att gag ctt gcc ata 240  
 Ser Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu Ile Glu Leu Ala Ile 80  
 65 70 75  
 55 gac ttt gac cca agt atc ctc gtg aca ggg ttt gtc gga acc gcc atc 288  
 Asp Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Gly Phe Val Gly Thr Ala Ile 95  
 85 90 95  
 gcc ttc ggg tgc ttc tct ggc gcc gcc atc atc gcc aag cgc agg gag 336  
 Ala Phe Gly Cys Phe Ser Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu 110  
 60 100 105 110  
 tac ctg tac ctc ggt ggt ctg ctc tcc tcc ggc ctg tgg atc ctg ctc 384  
 Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu 125  
 115 120 125  
 65 tgg ctg cag ttt gcc acg tcc atc ttt ggc cac tcc tct ggc agc ttc 432

## 17

	Trp	Leu	Gln	Phe	Ala	Thr	Ser	Ile	Phe	Gly	His	Ser	Ser	Gly	Ser	Phe	
	130						135					140					
5	atg	ttt	gag	gtt	tac	ttt	ggc	ctg	ttg	atc	ttc	ctg	gga	tac	atg	gtg	480
	Met	Phe	Glu	Val	Tyr	Phe	Gly	Leu	Leu	Ile	Phe	Leu	Gly	Tyr	Met	Val	
	145					150					155					160	
10	tac	gac	acg	cag	gag	atc	atc	gag	agg	gcg	cac	cac	ggc	gac	atg	gat	528
	Tyr	Asp	Thr	Gln	Glu	Ile	Ile	Glu	Arg	Ala	His	His	Gly	Asp	Met	Asp	
					165					170					175		
15	tac	atc	aag	cac	gcg	ctc	acc	ctc	ttc	acc	gac	ttc	gtc	gcc	gtt	ctc	576
	Tyr	Ile	Lys	His	Ala	Leu	Thr	Leu	Phe	Thr	Asp	Phe	Val	Ala	Val	Leu	
				180					185					190			
20	gtc	cgc	gtc	ctc	atc	atc	ttg	ctc	aag	aac	gca	gcg	gac	aag	gtc	gga	624
	Val	Arg	Val	Leu	Ile	Ile	Leu	Lys	Asn	Ala	Ala	Ala	Asp	Lys	Val	Gly	
			195				200						205				
25	ggc	caa	gaa	gag	gag	gaa	gag	aag	tcc								651
	Gly	Gln	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Lys	Ser								
		210					215										
30	<210>	16															
	<211>	217															
	<212>	PRT															
	<213>	Triticum aestivum															
35	<400>	16															
	Val	Ala	Met	Pro	Gly	Arg	Arg	Phe	Arg	Leu	Thr	Tyr	Ala	Leu	Pro	Gly	
	1				5					10					15		
40	Leu	Ile	Cys	Arg	Gly	Cys	Leu	Pro	Ala	His	Cys	Pro	Glu	His	Trp	Arg	
				20					25					30			
45	Asp	Ala	Asp	Asn	Ala	Arg	Val	Tyr	Arg	Asn	His	Arg	Leu	Asp	Val	Leu	
			35					40					45				
50	Gly	Ala	Ser	Leu	Arg	Gly	Glu	Glu	Glu	Val	Trp	Ala	Ala	Asp	Gly	Cys	
		50				55						60					
55	Ser	Leu	Leu	Glu	Gly	Ala	Ser	Val	Gly	Pro	Leu	Ile	Glu	Leu	Ala	Ile	
	65				70				75						80		
60	Asp	Phe	Asp	Pro	Ser	Ile	Leu	Val	Thr	Gly	Phe	Val	Gly	Thr	Ala	Ile	
					85				90						95		
65	Ala	Phe	Gly	Cys	Phe	Ser	Gly	Ala	Ala	Ile	Ile	Ala	Lys	Arg	Arg	Glu	
				100				105						110			
70	Tyr	Leu	Tyr	Leu	Gly	Gly	Leu	Leu	Ser	Ser	Gly	Leu	Ser	Ile	Leu	Leu	
			115				120						125				
75	Trp	Leu	Gln	Phe	Ala	Thr	Ser	Ile	Phe	Gly	His	Ser	Ser	Gly	Ser	Phe	
		130					135					140					
80	Met	Phe	Glu	Val	Tyr	Phe	Gly	Leu	Leu	Ile	Phe	Leu	Gly	Tyr	Met	Val	
	145					150					155					160	
85	Tyr	Asp	Thr	Gln	Glu	Ile	Ile	Glu	Arg	Ala	His	His	Gly	Asp	Met	Asp	
					165					170					175		
90	Tyr	Ile	Lys	His	Ala	Leu	Thr	Leu	Phe	Thr	Asp	Phe	Val	Ala	Val	Leu	
				180					185					190			

## 18

Val Arg Val Leu Ile Ile Leu Leu Lys Asn Ala Ala Asp Lys Val Gly  
 195 200 205

Gly Gln Glu Glu Glu Glu Glu Lys Ser  
 210 215

5

10 <210> 17  
 <211> 412  
 <212> DNA  
 <213> Zea mays

15 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (3)..(410)  
 <223> coding for BII-protein

20 <400> 17  
 tt gtt att gac ttg gat tcg agg att ctc gtc act gcg ttc gtc ggg 47  
 Val Ile Asp Leu Asp Ser Arg Ile Leu Val Thr Ala Phe Val Gly  
 1 5 10 15

25 acc gca gtt gct ttt gca tgc ttc tct ggc gct gcc atc atc gcc aag 95  
 Thr Ala Val Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys  
 20 25 30

30 cgc agg gaa tac ctg tac ctc ggc ggt ctg ctt tca tct ggc ctc tcc 143  
 Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser  
 35

35 att ctt ctc tgg ctg cag ttt gct act tca atc ttt ggc cac acc agc 191  
 Ile Leu Leu Trp Leu Gln Phe Ala Thr Ser Ile Phe Gly His Thr Ser  
 50 55 60

40 gcg acc ttc atg ttt gag ctc tac ttt ggc ctc ctg gtt ttc ctg gga 239  
 Ala Thr Phe Met Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Val Phe Leu Gly  
 65 70 75

45 tat atg gtg ttt gac acc cag gag atc atc gag agg gcg cac cgt ggg 287  
 Tyr Met Val Phe Asp Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His Arg Gly  
 80 85 90 95

50 gac atg gac tac atc aag cac gcg ctg act ctc ttc acc gac ttt gtt 335  
 Asp Met Asp Tyr Ile Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val  
 100 105 110

55 gcg gtt ctt gtt cga atc ctt gtc atc atg atg aag aat gca cag gag 383  
 Ala Val Leu Val Arg Ile Leu Val Ile Met Met Lys Asn Ala Gln Glu  
 115 120 125

60 aaa tcc caa gac gag aag aag agg aag aa 412  
 Lys Ser Gln Asp Glu Lys Lys Arg Lys  
 130 135

65 <210> 18  
 <211> 136  
 <212> PRT  
 <213> Zea mays

<400> 18  
 Val Ile Asp Leu Asp Ser Arg Ile Leu Val Thr Ala Phe Val Gly Thr  
 1 5 10 15

Ala Val Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg

## 19

	20	25	30	
	Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile			
	35	40	45	
5	Leu Leu Trp Leu Gln Phe Ala Thr Ser Ile Phe Gly His Thr Ser Ala			
	50	55	60	
10	Thr Phe Met Phe Glu Leu Tyr Phe Gly Leu Leu Val Phe Leu Gly Tyr			
	65	70	75	80
	Met Val Phe Asp Thr Gln Glu Ile Ile Glu Arg Ala His Arg Gly Asp			
	85	90	95	
15	Met Asp Tyr Ile Lys His Ala Leu Thr Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala			
	100	105	110	
	Val Leu Val Arg Ile Leu Val Ile Met Met Lys Asn Ala Gln Glu Lys			
	115	120	125	
20	Ser Gln Asp Glu Lys Lys Arg Lys			
	130	135		
25	<210> 19 <211> 345 <212> DNA <213> Triticum aestivum			
30	<220> <221> CDS <222> (1)..(342)			
35	<400> 19 gcc gcc atc atc gcc aag cgc agg gag tac ctg tac ctc ggt ggc ctg 48 Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu 1 5 10 15			
40	ctc tcc tcc ggc ctg tgc atc ctg ctc tgg ctg cag ttt gcc acg tcc 96 Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu Gln Phe Ala Thr Ser 20 25 30			
45	atc ttt ggc cac tcc tct ggc agc ttc atg ttt gag gtt tac ttt ggc 144 Ile Phe Gly His Ser Ser Gly Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly 35 40 45			
50	ctg ttg atc ttt ctg gga tac atg gtg tac gac acg cag gag atc atc 192 Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp Thr Gln Glu Ile Ile 50 55 60			
55	gag agg gcg cac cac ggc gac atg gac tac atc aag cac gcg ctc acc 240 Glu Arg Ala His His Gly Asp Met Asp Tyr Ile Lys His Ala Leu Thr 65 70 75 80			
	ctc ttc acc gac ttt gtc gcc gtc ctc gtc cgg atc ctc atc atc atg 288 Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Leu Val Arg Ile Leu Ile Ile Met 85 90 95			
60	ctc aag aac gca ggc gac aag tcg gag gac aag aag aag agg aag agg 336 Leu Lys Asn Ala Gly Asp Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Arg Lys Arg 100 105 110			
65	agg tcc tga 345 Arg Ser			

<210> 20  
<211> 114  
<212> PRT  
5 <213> Triticum aestivum

<400> 20  
Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu  
1 5 10 15  
10 Leu Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu Gln Phe Ala Thr Ser  
20 25 30  
15 Ile Phe Gly His Ser Ser Gly Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly  
35 40 45  
Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp Thr Gln Glu Ile Ile  
50 55 60  
20 Glu Arg Ala His His Gly Asp Met Asp Tyr Ile Lys His Ala Leu Thr  
65 70 75 80  
Leu Phe Thr Asp Phe Val Ala Val Leu Val Arg Ile Leu Ile Ile Met  
85 90 95  
25 Leu Lys Asn Ala Gly Asp Lys Ser Glu Asp Lys Lys Lys Arg Lys Arg  
100 105 110  
30 Arg Ser

<210> 21  
35 <211> 403  
<212> DNA  
<213> Zea mays

<220>  
40 <221> CDS  
<222> (1)..(402)  
<223> coding for BII-protein

<400> 21  
45 ggc agc atc gcc tgg ctc ttc tgc gtg ccc gtc tac gag gag agg aag 48  
Gly Ser Ile Ala Trp Leu Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu Arg Lys  
1 5 10 15  
50 agg tac tgg ctg ctg atg gcg gct gcc ctc ctg gaa ggg gcg tgc gtt 96  
Arg Tyr Trp Leu Leu Met Ala Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val  
20 25 30  
55 gga ccc ctc atc aag ctc gcc gtg gaa ttt gac cca agc atc ctg gtg 144  
Gly Pro Leu Ile Lys Leu Ala Val Glu Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val  
35 40 45  
60 aca gcg ttc gtg ggg act gcc att gcg ttc gcg tgc ttc tct tgc gcg 192  
Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Ala Cys Phe Ser Cys Ala  
50 55 60  
65 gcc atg gtg gcc aag cgc agg gag tac ctc tac ctg gcc ggg ctg ctc 240  
Ala Met Val Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu  
65 70 75 80  
65 tct tct ggc ctc tcc atc ctg ctc tgg ctg cag ttc gcc gcc tcc atc 288  
Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu Gln Phe Ala Ala Ser Ile



21

85 90 95  
 5 ttc ggc cac caa tcc act agc agc ttc atg ttt gag gtc tac ttt ggg 336  
 Phe Gly His Gln Ser Thr Ser Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly  
 100 105 110  
 10 ctg ctc atc ttc ctg ggc tac atg gtg tac gac acg cag gag gtc atc 384  
 Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp Thr Gln Glu Val Ile  
 115 120 125  
 15 gag agg gcg cac cac ggc g  
 Glu Arg Ala His His Gly  
 130  
 20 <210> 22  
 <211> 134  
 <212> PRT  
 <213> Zea mays  
 25 <400> 22  
 Gly Ser Ile Ala Trp Leu Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu Arg Lys  
 1 5 10 15  
 30 Arg Tyr Trp Leu Leu Met Ala Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val  
 20 25 30  
 Gly Pro Leu Ile Lys Leu Ala Val Glu Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val  
 35 35 40 45  
 40 Thr Ala Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Ala Cys Phe Ser Cys Ala  
 50 55 60  
 45 Ala Met Val Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu  
 65 65 70 75 80  
 Ser Ser Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu Gln Phe Ala Ala Ser Ile  
 85 90 95  
 50 Phe Gly His Gln Ser Thr Ser Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly  
 100 105 110  
 Leu Leu Ile Phe Leu Gly Tyr Met Val Tyr Asp Thr Gln Glu Val Ile  
 115 120 125  
 55 Glu Arg Ala His His Gly  
 130  
 60 <210> 23  
 <211> 410  
 <212> DNA  
 <213> Zea mays  
 65 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (3)..(410)  
 <223> coding for BI1-protein  
 70 <400> 23  
 gc tgg aac atc ggc gtg agg ctg aca atg ctc ggt tgc atc ggc agc 47  
 Trp Asn Ile Gly Val Arg Leu Thr Met Leu Gly Cys Ile Gly Ser  
 1 5 10 15  
 75 atc gac tgg ctc ttc tcg gtg ccc gtc tac gag gag agg aag agg tat 95

## 22

Ile Asp Trp Leu Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu Arg Lys Arg Tyr  
 20 25 30  
 5 ggg ctg ctg atg gcg gct gcc ctc ctg gaa ggc gct tcg gtc gga ccc 143  
 Gly Leu Leu Met Ala Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro  
 35 40 45  
 10 ctc gtc aag ctc gcc gtg gaa ttt gac cca agc atc ctg gtg acg gcg 191  
 Leu Val Lys Leu Ala Val Glu Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Ala  
 50 55 60  
 15 ttc gtg ggg act gcc atc gcg ttc gcg tgc ttc tcc ggc gcg gcc atg 239  
 Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Ala Met  
 65 70 75  
 20 gtt gcc agg cgc agg gag tac ctc tac ctg ggc ggc ctg ctc tcg tcg 287  
 Val Ala Arg Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser  
 80 85 90  
 25 ggg ctc tcc atc ctg ctc tgg ctg cag ctc gcc gcc tcc atc ttc ggc 335  
 Gly Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu Gln Leu Ala Ala Ser Ile Phe Gly  
 100 105 110  
 30 cac tcc gca acc agc ttc atg ttc gag gtc tac ttc ggc ctg ctc atc 383  
 His Ser Ala Thr Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile  
 115 120 125  
 35 ttc ctg ggc tac gtg gtg tac gac acg 410  
 Phe Leu Gly Tyr Val Val Tyr Asp Thr  
 130 135  
 <210> 24  
 <211> 136  
 <212> PRT  
 <213> Zea may  
 <400> 24  
 Trp Asn Ile Gly Val Arg Leu Thr Met Leu Gly Cys Ile Gly Ser Ile  
 1 5 10 15  
 40 Asp Trp Leu Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu Arg Lys Arg Tyr Gly  
 20 25 30  
 45 Leu Leu Met Ala Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu  
 35 40 45  
 50 Val Lys Leu Ala Val Glu Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Ala Phe  
 50 55 60  
 55 Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Ala Met Val  
 65 70 75 80  
 60 Ala Arg Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Leu Ser Ser Gly  
 85 90 95  
 65 Leu Ser Ile Leu Leu Trp Leu Gln Leu Ala Ala Ser Ile Phe Gly His  
 100 105 110  
 60 Ser Ala Thr Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Phe  
 115 120 125  
 65 Leu Gly Tyr Val Val Tyr Asp Thr  
 130 135

## 23

<210> 25  
 <211> 463  
 <212> DNA  
 5 <213> Triticum aestivum  
  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(462)  
 10 <223> coding for B11-protein  
  
 <400> 25  
 ttc tca ggt acg ttc cgc aat tcc cgg agc gac gat ttc gtg ctc tgc 48  
 Phe Ser Gly Thr Phe Arg Asn Ser Arg Ser Asp Asp Phe Val Leu Cys  
 15 1 5 10 15  
  
 gaa ctt cag cga gag ctc ccc cga tgc cgg gac gca acc ttg acg gtc 96  
 Glu Leu Gln Arg Glu Leu Pro Arg Cys Arg Asp Ala Thr Leu Thr Val  
 20 20 25 30  
  
 gta tac gtg atc cca ata gtg ggc cga ata aaa tct gcc gcg ggt gct 144  
 Val Tyr Val Ile Pro Ile Val Gly Arg Ile Lys Ser Ala Ala Gly Ala  
 35 40 45  
  
 25 tac ctg cac att gcc ctg aac atc ggt ggg atg ctg aca atg ctt gcg 192  
 Tyr Leu His Ile Ala Leu Asn Ile Gly Gly Met Leu Thr Met Leu Ala  
 50 55 60  
  
 30 tgt atc gga acc att gcc tgg atg ttc tct gtg cca gtc tat gag gag 240  
 Cys Ile Gly Thr Ile Ala Trp Met Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu  
 65 70 75 80  
  
 agg aag agg ttt ggg ctg ctg atg ggt gca gcc ctc ctg gaa ggg gct 288  
 Arg Lys Arg Phe Gly Leu Leu Met Gly Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala  
 35 85 90 95  
  
 tcg gtt gga cct ctg att gag ctt gcc ata gac ttt gac cca agc atc 336  
 Ser Val Gly Pro Leu Ile Glu Leu Ala Ile Asp Phe Asp Pro Ser Ile  
 40 100 105 110  
  
 ctc gtg aca ggg ttt gtt gga acc gcc atc gcc ttt ggg tgc ttc tct 384  
 Leu Val Thr Gly Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Gly Cys Phe Ser  
 115 120 125  
  
 45 ggc gcc gcc atc atc gcc aag cgc agg gag tac ctg tac ctc gga ggc 432  
 Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly  
 130 135 140  
  
 50 ctg ctc tcc tcc ggc ctg acg atc ctg ctc t 463  
 Leu Leu Ser Ser Gly Leu Thr Ile Leu Leu  
 145 150  
  
 <210> 26  
 55 <211> 154  
 <212> PRT  
 <213> Triticum aestivum  
  
 <400> 26  
 60 Phe Ser Gly Thr Phe Arg Asn Ser Arg Ser Asp Asp Phe Val Leu Cys  
 1 5 10 15  
  
 Glu Leu Gln Arg Glu Leu Pro Arg Cys Arg Asp Ala Thr Leu Thr Val  
 20 25 30  
 65 Val Tyr Val Ile Pro Ile Val Gly Arg Ile Lys Ser Ala Ala Gly Ala

24

35 40 45  
 Tyr Leu His Ile Ala Leu Asn Ile Gly Gly Met Leu Thr Met Leu Ala  
 50 55 60  
 5 Cys Ile Gly Thr Ile Ala Trp Met Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu  
 65 70 75 80  
 10 Arg Lys Arg Phe Gly Leu Leu Met Gly Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala  
 85 90 95  
 Ser Val Gly Pro Leu Ile Glu Leu Ala Ile Asp Phe Asp Pro Ser Ile  
 100 105 110  
 15 Leu Val Thr Gly Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Gly Cys Phe Ser  
 115 120 125  
 Gly Ala Ala Ile Ile Ala Lys Arg Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly  
 130 135 140  
 20 Leu Leu Ser Ser Gly Leu Thr Ile Leu Leu  
 145 150  
 25  
 <210> 27  
 <211> 388  
 <212> DNA  
 <213> Zea mays  
 30  
 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (3)..(386)  
 <223> coding for BII1-protein  
 35  
 <400> 27  
 tc tgg aac atc ggc ggg acg ctg aca atg ctc ggt tgc gtc ggc agc 47  
 Trp Asn Ile Gly Gly Thr Leu Thr Met Leu Gly Cys Val Gly Ser 15  
 1 5 10  
 40 atc gcc tgg ctc ttc tcg gtg ccc gtc tac gag gag agg aag agg tat 95  
 Ile Ala Trp Leu Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu Arg Lys Arg Tyr 30  
 20 25  
 45 ggg ctg ctg atg gcg gct gcc ctc ctg gaa ggc gct tcg gtc gga ccc 143  
 Gly Leu Leu Met Ala Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro 45  
 35 40  
 50 ctc gtc aag ctc gcc gtg gaa ttt gac cca agc atc ctg gtg acg gcg 191  
 Leu Val Lys Leu Ala Val Glu Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Ala 60  
 50  
 55 ttc gtg ggg act gcc atc gcg ttc gcg tgc ttc tcc ggc gcg cca tgg 239  
 Phe Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Pro Trp 75  
 65  
 60 tgg cag gcc agg gag tac ctc tac ctg ggc ggc tgc tct cgt cga ggc 287  
 Trp Gln Ala Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Cys Ser Arg Arg Gly 95  
 80  
 65 tct cca tcc tgc tct ggc tgc agc tcg ccg cct cca tct tcg gca ctc 335  
 Ser Pro Ser Cys Ser Gly Cys Ser Ser Pro Pro Pro Ser Ser Ala Leu 110  
 100  
 65 cgc aac agc ttc atg ttc gag gtc tac ttc ggg ctg ctc att ctt ctg 383  
 Arg Asn Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Leu Leu

25

115

120

125

388

ggc ta  
Gly

5

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 128

&lt;212&gt; PRT

10

&lt;213&gt; Zea mays

&lt;400&gt; 28

Trp Asn Ile Gly Gly Thr Leu Thr Met Leu Gly Cys Val Gly Ser Ile  
1 5 10 15

15

Ala Trp Leu Phe Ser Val Pro Val Tyr Glu Glu Arg Lys Arg Tyr Gly  
20 25 30

20

Leu Leu Met Ala Ala Ala Leu Leu Glu Gly Ala Ser Val Gly Pro Leu  
35 40 45Val Lys Leu Ala Val Glu Phe Asp Pro Ser Ile Leu Val Thr Ala Phe  
50 55 60

25

Val Gly Thr Ala Ile Ala Phe Ala Cys Phe Ser Gly Ala Pro Trp Trp  
65 70 75 80Gln Ala Arg Glu Tyr Leu Tyr Leu Gly Gly Cys Ser Arg Arg Gly Ser  
85 90 95

30

Pro Ser Cys Ser Gly Cys Ser Ser Pro Pro Pro Ser Ser Ala Leu Arg  
100 105 110

35

Asn Ser Phe Met Phe Glu Val Tyr Phe Gly Leu Leu Ile Leu Leu Gly  
115 120 125

40

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 1737

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Solanum tuberosum

45

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; promoter

&lt;222&gt; (1)..(1737)

&lt;223&gt; patatin promotor

50

&lt;400&gt; 29

aagcttatgt tgccatatag agtagtttgt gatgggtatac ttcataaact ttaacttatg 60

ttaaatttgt aatgataaaa tttttattgt aaattaaaaa ttacttataa aattggggcat 120

tataacatat gaaagacaaa ttgtgttaca ttttttactt ttgactttaa tatgaatatt 180

tcaatttaaa tcattgtttt attttctctt tctttttaca ggtataaaaag gtgaaaattg 240

aagcaagatt gattgcaagc tatgtgtcac caggttattg atactttgga agaaattttt 300

55

acttatatgt ctttgttttag gagtaaatatt tgatatgttt tagtttagatt ttcttgtcat 360

ttatgcttta gtataatttt agttattttt attatatgat catgggtgaa ttttgataca 420

aatatttttg tcattaaata aattaattta tcacaacttg attactttca gtgacaaaaa 480

atgtattgtc gtagtaccct tttttgttga atatgaataa ttttttttat tttgtgacaa 540

ttgtaattgt cactacttat gataaatatt agtgacatat atgtcgtcgg taaaagcaaa 600

60

cactttcagt gacaaaataa tagatttaac cacaataa ttaacctttt ttataataat 660

aaatttatcc ctaatttata catttaagga caaagtattt tttttatata taaaaaatag 720

tcttttagtga cgatcgtagt gttgagtcta gaaatcataa tgttgaatct agaaaaatct 780

catgcagtggt aaaataaacc tcaaaaagga cgttcagtc atagaggggg tgtatgtgac 840

accccaacct cagcaaaaga aaacctccct tcaacaagga catttgcggt gctaaacaat 900

65

ttcaagtctc atcacacata tttttattat ataatactaa taaagaatag aaaaggaaaag 960

gtaaacatca tttaatcgtc tttgtatatt tttagtgaca actgattgac gaaatctttt 1020

## 26

```

tcgtcacaca aaatttttag tgacgaaaca tgatttatag atgatgaaat tatttgcccc 1080
tcataatcta atttgttgta gtgatcatta ctctttgtt tgttttattt gtcattgttag 1140
tccattaaaa aaaaatatct ctcttcttat gtacgtgaat ggttggaacg gatctattat 1200
ataatactaa taaagaatag aaaaaggaaa gtgagtgagg ttcgagggag agaactctgtt 1260
5 taatatcaga gtcgatcatg tgtcaatttt atcgatatga ccctaacttc aactgagttt 1320
aaccaattcc gataaggcga gaaatatcat agtattgagt ctagaaaaat ctcatgtagt 1380
gtggggtaaa cctcagcaag gacgttgagt ccatagaggg ggggtgtatgt gacaccccaa 1440
cctcagcaaa agaaaacctc ccctcaagaa ggacatttgc ggtgctaacc aatttcaagt 1500
ctcatcacac atatatatat attatataat actaataaat aatagaaaaa ggaaaggtaa 1560
10 acatcactaa cgacagttgc ggtgcaaaact gagtgaggta ataaacatca ctaactttta 1620
ttggttatgt caaactcaaa gtaaaatttc tcaacttgtt tacgtgccta tatataccat 1680
gcttgttata tgctcaaagc accaacaaaa tttaaaaaca ctttgaacat ttgcaaa 1737

```

15 <210> 30  
 <211> 1317  
 <212> DNA  
 <213> Triticum aestivum

20 <220>  
 <221> promoter  
 <222> (1)..(1317)  
 <223> germin 9f-3.8 gene promotor

```

25 <400> 30
gaattcaagc tatcactctc gaaccaagca cattgatgta aggtatcatt ggattccaga 60
tgctcgtgagt tccaagttgc tgaaacttga gaagatccat accgacgaca atgggttcaga 120
tatgatgacc aagatattgc gaaataagaa gctacaagca tggttgcaagg tagcgggcat 180
ggcggtgccc ccatcatgag tcggaggggg agatttggtg ggatattctc ctcatgtggg 240
30 ttctgaggag atgaccattt gaggcctttt agccagccca aagaggtgca gaagcccact 300
acccattagg gttatgacct aggggtcattt tggactttgc acatgagtgg atggggatgc 360
tttaccctcc atccagcagc caccaccaag ggtgacgaaa atcagttcat cctccaagag 420
agaagaagag agaaaaccaa gagagcaagg gaagaagagg aagattgaag gaagaagaaa 480
agggagctcc tcccgaagg tgtgatggtc catatccact atcttgtctc cttcaaactt 540
35 cggttccacc atctttggta agattgttct aatccctagt tcttgagccc caaatcttgt 600
tgtgttcac ccaagattcag aaatcctgat gtatgagatc tcttagagctc gtctagagaa 660
gaatttggtg tatccacat ttgataatag tggaagagga tttgggtggc ttcggcccat 720
ggtttttccc ctcaagttga ggggttttcc acgtaaaatc tgggtgtctc ttgttgatgc 780
ttggtgttgt ccagaaactt actcctacca caagacacta ggggcccagt cttttgggaa 840
40 attctcccag aattgaccct ctcccagct tctcccagaa ttgtcactcc atttttctt 900
acaattccta gctagttaag gtctaattag ttaggaattg taaaaaaata tcaagtggca 960
attctgggag aagctgggga gggggtcaat tctggaagaa ttgcccacaa gaactggccc 1020
taggctgagg agtgccttgc ctgctgctta acattttctg cctccatata tgttgttgca 1080
tatgtttcct tccgtgctaa gcaacgatcc ttgagttagt acatgatgtg gtgctgagat 1140
45 tactttgttt tcgctgcagt tatcagttaa ccacaagtgc atttgctgac taattcccaa 1200
caatatgcca cccgcaactc atccaccata gctcagcagc aaccaccaat gccatagaca 1260
ctctcggtaa acaacctgta gcttatcagt ctagctaagg gtgctgcata gcaagca 1317

```

50 <210> 31  
 <211> 959  
 <212> DNA  
 <213> Arabidopsis thaliana

55 <220>  
 <221> promoter  
 <222> (1)..(959)  
 <223> CAB-2 promotor

```

60 <400> 31
gaattcatgt gtgagggcaa ttagtgattg taaaaataaa attgtgtttt gtaaaaaact 60
tttactgtcg aaattattta ggggtgatgaa aaaatcagta aactacgaat gatagcttaa 120
agagtttcta tcaaagtgat tgaggaatag tttgttgcaa attaaacctc taacaaaatg 180
ttttctgttg tggtttttca tctctacaaa ttttgaattt tatgatgaat tagaaagata 240
65 gaatgagtta ctttagattt taaaagggtg ttcaagttta caaacagat tactagaatc 300
atgattaaaa atttacaagc tacatatgtt ctaaaccaat gatgttgaac ataccagatg 360

```

## 27

5 atagtttttc agtgtttgaa caatcaattg gatagttttt atgtttctgc aaaatatgca 420  
aataatcagt gtttttgagt ctttgcattt tgatttataa gcaaaaacaa ctgagtttca 480  
agggttaaatt aattacatta ttcattgagat ttatcagggt agtggataaa ctgacaatgg 540  
aatcaatggtt attgtaaatt ggtagtgtat ttggacttct aatgttactc tctatgatgt 600  
ttcgggtcatc ggtatcacac tatctttact tttatttataa ggaaagatca cacaaataag 660  
ttatctctat tcagaactat taagctgctt ccaaaagact tgcaacatgt ggtctcgaaa 720  
tgctttggct gcaatgaaaa aatcatagca aaagctagtg gactagagac tgccacataa 780  
gaatagtataa cgttaaaacc aaaatctcaa aaatccaatg agtaaagaga tatagattac 840  
ttcatagata acaaacgtta ctgcgaattt tcctatataa tccaacccta cctaaccatt 900  
10 ttcaatcact ctcaactaca agtttagtcac caaaaaaaaaa aaaaacacaa aaagttttca 959

15 <210> 32  
<211> 445  
<212> DNA  
<213> Zea mays

20 <220>  
<221> promoter  
<222> (1)..(445)  
<223> PPCZm1 promoter

25 <400> 32  
gaattccaaa aatagacacg gcaattttct tattcacaga aaaaatataa ctacaactaa 60  
tccccaagtc cacaggggatt agggatcaat ctgcaaaact aaaagtactt ttacagttgt 120  
acttggcatg agtcatgtga ccatgagaga ggcgcacggt tcagcaaagc aacataaaat 180  
tctccaaacg ggccccgcca cacacgatca ccatcacccc cgggctcccg acccagtaca 240  
aatagacacg cacactccca actccccacc catctccgcc gcgcacaccg cccaatcagc 300  
caatctcctc ctctctcctc gctctcagac gagcagcggt tgccatcact ctccacttcc 360  
30 cagccccgct gcgggctcgc aggcggcaga gaattgtctg tgccgcgggg tgggaatttg 420  
attcggtcgg attccgtgcg ccgcg 445

35 <210> 33  
<211> 5455  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

40 <220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: recombinant  
expression vector pUbiBI-1

45 <400> 33  
ggggatcctc tagagtgcac ctgcaggcgg ccgcactagt gattaggatt ccaacgcgag 60  
ccaggacaag cgaggaaact tgcgtgcgag gcgaggccgc cccgctccga ttcgattcga 120  
cgcgccaggc caggcgcagg gatggacgcc ttctactcga cctcgtccgc ggcggcgagc 180  
ggctggggcc acgactccct caagaacttc cgccagatct cccccgccgt gcagtcccac 240  
ctcaagctcg tttaacctgac tctatgcttt gcactggcct catctgccgt ggggtgcttac 300  
ctacacattg ccctgaacat cggcgggatg ctgacaatgc tcgcttggtg cggaactatc 360  
50 gcttggtatg tctcgtgtcc agtctatgag gagaggaaga ggtttgggct gctgatgggt 420  
gcagccctcc tgggaagggc ttcggttgga cctctgattg agcttgccat agactttgac 480  
ccaagcatcc tcgtgacagg gtttgctcga accgccatcg cctttgggtg cttctctggc 540  
gccgccatca tcgccaagcg caggagtagc ctgtacctcg gtggcctgct ctctctggc 600  
ctgtcgatcc tgctctggct gcagtttgte acgtccatct ttggccactc ctctggcagc 660  
55 ttcatgtttg aggtttactt tggcctgttg atcttctctg ggtacatggt gtacgacacg 720  
caggagatca tcgagagggc gcaccatggc gacatggact acatcaagca cgccctcacc 780  
ctcttcaccg actttgttgc cgtcctcgtc cgagtctcga tcactcatgct caagaacgca 840  
ggcgacaagt cggaggacaa gaagaagggt gttttacaac cctgaacgtw tctccgcac 900  
60 atgtagatac cgtcacccgc tcgacctgca ggcatgccc ctgaaatcac cagtctctct 960  
ctacaaatct atctctctca taataatgtg tgagttagtt ccagataagg gaattagggt 1020  
tcttataggg ttctcgtcat gtgttgagca tataagaaac ccttagtatg tatttgatt 1080  
tgtaaaatac ttctatcaat aaaatttcta attcctaaaa ccaaaatcca gtgggtaccg 1140  
agctcgaatt caagcttggc actggcgtc gttttacaac gtcgtgactg ggaaaaccct 1200  
ggcggttacc aacttaatcg ccttgacgca catccccctt tcgccagctg gcgtaatagc 1260  
65 gaagaggccc gcaccgatcg cccttcccaa cagttgcgca gcctgaatgg cgaatggcgc 1320  
ctgatgcggt attttctct tacgcatctg tgcggtattt cacaccgcat atggtgcact 1380

## 28

	ctcagtagaa	tctgctctga	tgccgcatag	ttaagccagc	cccgacaccc	gccaacaccc	1440
	gctgacgcgc	cctgacgggc	ttgtctgctc	ccggcatccg	cttacagaca	agctgtgacc	1500
	gtctccggga	gctgcatgtg	tcagagggtt	tcaccgtcat	caccgaaacg	cgcgagacga	1560
5	aagggcctcg	tgatacgcct	atTTTTatag	gttaatgtca	tgataataat	ggTTTTcttag	1620
	acgtcagggt	gcactTTTTc	gggaaatgtg	cgcggaaccc	ctatttgttt	atTTTTctaa	1680
	atacattcaa	atatgtatcc	gctcatgaga	caataaccct	gataaatgct	tcaataatat	1740
	tgaaaaagga	agagtatgag	tattcaacat	ttccgtgtcg	cccttattcc	ctTTTTtgcg	1800
	gcattttgcc	ttcctgtttt	tgctcaccca	gaaacgctgg	tgaaagtaaa	agatgttgaa	1860
	gatcagttgg	gtgcacgagt	gggtttacat	gaactggatc	tcaacagcgg	taagatcctt	1920
10	gagagttttc	gccccgaaga	acgtttttcca	atgatgagca	cttttaaagt	tctgctatgt	1980
	ggcgcgggtat	tatcccgat	tgacgccggg	caagagcaac	tcggtcggcg	catacactat	2040
	tctcagaatg	acttggttga	gtactcacca	gtcacagaaa	agcatcttac	ggatggcatg	2100
	acagtaagag	aattatgcag	tgctgccata	accatgagtg	ataacactgc	ggccaactta	2160
	cttctgacaa	cgatcggagg	accgaaggag	ctaaccgctt	ttttgcacaa	catgggggat	2220
15	catgtaacte	gccttgatcg	ttgggaaccg	gagctgaatg	aagccatacc	aaacgcagag	2280
	cgtgacacca	cgatgcctgt	agcaatggca	acaacgttgc	gcaaactatt	aactggcgaa	2340
	ctacttactc	tagcttcccc	gcaacaatta	atagactgga	tggaaggcga	tgaagtgtga	2400
	ggaccacttc	tgcgctcggc	ccttccgggt	ggctggttta	ttgctgataa	atctggagcc	2460
	ggtgagcggt	ggtctcgcg	tatcattgca	gcactggggc	cagatggtaa	gccctcccgt	2520
20	atcgtagtta	tctacacgac	ggggagtcag	gcaactatgg	atgaacgaaa	tagacagatc	2580
	gctgagatag	gtgcctcact	gattaagcat	tggttaactgt	cagaccaagt	ttactcatat	2640
	atactttaga	ttgattttaa	acttcatttt	taatttataa	ggatctaggt	gaagatcctt	2700
	tttgataaat	tcatgaccaa	aatcccttaa	cgtgagtttt	cgttccactg	agcgtcagac	2760
	cccgtagaaa	agatcaaagg	atcttcttga	gatacctttt	ttctgcgcgt	aatctgtctg	2820
25	ttgcaaacaa	aaaaaccacc	gctaccagcg	gtggtttggt	tgccggatca	agagctacca	2880
	actctttttc	cgaaggtaac	tggttccagc	agagcgcaga	taccaaatat	tgttcttcta	2940
	gtgtagccgt	agttaggcca	ccacttcaag	aactctgtag	caccgcctac	atacctcgct	3000
	ctgctaattc	tgttaccagt	ggctgctgcc	agtggcgata	agtcgtgtct	taccgggttg	3060
	gactcaagac	gatagttacc	ggataaggcg	cagcggtcgg	gctgaacggg	gggttcgtgc	3120
30	acacagccca	gcttggagcg	aacgacctac	accgaactga	gatacctaca	gcgtgagctt	3180
	tgagaaagcg	ccacgcttcc	cgaagggaga	aaggcggaca	ggatatccgg	aagcggcagg	3240
	gtcggaaacg	gagagcgcac	gagggagcct	ccagggggaa	acgcctggta	tctttatagt	3300
	cctgtcgggt	ttcgccacct	ctgacttgag	cgctcgattt	tgtgatgtct	gtcagggggg	3360
	cggagcctat	ggaaaaaacg	cagcaacgcg	gcctttttac	ggttccctgg	cttttgcctg	3420
35	ccctttgtct	acatgttctt	tcctgcgtta	tcccctgatt	ctgtggataa	ccgtattacc	3480
	gcctttgagt	gagctgatac	cgctcgccgc	agccgaacga	ccgagcgcag	cgagtcagtg	3540
	agcgaggaag	cgaagagcg	cccaatacgc	aaaccgcctc	tccccgcgcg	ttggccgatt	3600
	cattaatgca	gctggcacga	caggtttccc	gactggaaag	cgggcagtg	gcgcaacgca	3660
	attaatgtga	gttagctcac	tcattaggca	ccccaggctt	tacactttat	gcttccggct	3720
40	cgatatgttg	gtggaattgt	gagcggataa	caatttcaca	caggaaacag	ctatgacct	3780
	gattacgaat	tcccattgct	cgaggatcta	acatgcttag	atcacatgaag	taacatgctg	3840
	ctacggttta	ataattcttg	agttgatttt	tactggtagt	tagatagatg	tatatagatg	3900
	cttagatata	tgaagtaaca	tgctcctaca	gttcccttaa	tcattattga	gtacctatat	3960
	attctaataa	atcagtatgt	tttaatttat	tttgatttta	ctggtagtta	gatatagtta	4020
45	tatacatatg	ctcaaactat	cttagatata	tgaagtaaca	tgctgctacg	gttagtcat	4080
	tattgagtgc	ctataatttc	taataaatca	gtagtgttta	aattattttg	attttactgg	4140
	tacttagata	gatgtatata	tacatgctca	aacatgctta	gatacatgaa	gtaatatgct	4200
	actacggttt	aattgttctt	gagtagctat	atattctaata	aaatcagtat	gttttaaat	4260
	atttcgattt	tactggtagt	tagatagatg	tatatataca	tgcttagata	catgaagtaa	4320
50	catgctacta	cggtttaatt	gttcttgaat	acatatatat	tctaataaat	cagtatgttt	4380
	taaattattt	cgattttact	ggtacttaga	tagatgtata	tatacatgct	cgaacatgct	4440
	tagatacatg	aagtaacatg	ctacatatat	attataataa	atcagtatgt	cttaaattat	4500
	tttgattttt	ctggtagtta	gatagatgta	tatacatgct	caaacatgct	tagatacatg	4560
	aagtaacatg	ctactacggg	ttaatcatta	ttgagtacct	atataattcta	ataaatcagt	4620
55	atgttttcaa	ttgttttgat	tttactggta	cttagatata	tgatatata	catgctcgaa	4680
	catgcttaga	tacgtgaagt	aacatgctac	ttaggttaat	tggtcttgag	tacctatata	4740
	ttctaataaa	tcagtatgtt	ttaaattatt	tcgattttac	tggtacttag	atagatgtat	4800
	atatacatgc	tcgaacatgc	ttagatacat	gaagtaacat	gctactacgg	tttaatcggt	4860
	cttgagtacc	tatatattct	aataaatcag	tatgtcttaa	attatcttga	ttttactggg	4920
60	acttagatag	atgtatatata	atgcttagat	acatgaagta	acatgctact	atgatttaaat	4980
	cgttcttgag	tacctatata	ttctaataaa	tcagtatgtt	tttaattatt	ttgattttac	5040
	tggtacttag	atagatgtat	atatacatgc	tcgaacatgc	ttagatacat	gaagtaacat	5100
	gctactacgg	tttaatcatt	cttgagtacc	tatatattct	aataaatcag	tatgttttta	5160
	attattttga	tattactggg	acttaacatg	tttagatata	tcatatagca	tgacacatgct	5220
	gctactgttt	aatcattcgt	gaatacctat	atattctaata	atatcagtat	gtcttctaata	5280
65	tattatgatt	ttgatgtact	tgtatgggtg	catatgctgc	agctatgtgt	agattttgaa	5340



## 29

taccacagtgt gatgagcatg catggcgccct tcatagttca tatgctgttt atttcctttg 5400  
agactgttct tttttgttga tagtcaccct gttgttttgg gattcttatg caccc 5455

- 5 <210> 34  
<211> 12633  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

- 10 <220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: recombinant  
expression vector pLol14UbiBI-1

<400> 34  
15 aattcactgg ccgtcgtttt acaacgactc agagcttgac aggaggcccg atctagtaac 60  
atagatgaca ccgcgcgcga taatttatcc tagtttgccg gctatatattt gttttctatc 120  
gcgtattaaa tgtataattg cgggactcta atcataaaaa cccatctcat aaataacgtc 180  
atgcattaca tgtaattat tacatgctta acgtaattca acagaaatta tatgataatc 240  
atcgcaagac cggcaacagg attcaatcct aagaaacttt attgccaat gtttgaacga 300  
20 tcggggatca tccgggtctg tggcggaac tccacgaaaa tatccgaacg cagcaagatc 360  
tagagcttgg gtcccgtca gaagaactcg tcaagaaggc gatagaaggc gatgcgctgc 420  
gaatcgggag cggcgatacc gtaaagcagc aggaagcggg agcggtccgc cacacccagc 480  
tcttcagcaa tatcacgggt agccaacgct atgtcctgat agcggtccgc cacacccagc 540  
cggccacagt cgatgaatcc agaaaagcgg ccattttcca ccatgatatt cggcaagcag 600  
gcatcgccat gggtcacgac gagatcctcg ccgtcgggca tgcgcgcctt gagcctggcg 660  
aacagttcgg ctggcgcgag cccctgatgc tcttcgtcca gatcatcctg atcgacaaga 720  
ccggcttcca tccgagtacg tgctcgctcg atgcgatgtt tcgcttggtg gtcgaatggg 780  
caggtagccg gatcaagcgt atgcagccgc cgcatgtgat cagccatgat ggatacttcc 840  
tcggcaggag caaggtgaga tgacaggaga tccctgcccc gcacttcgcc caatagcagc 900  
cagtcccttc ccgcttcagt gacaacgtcg agcacagctg cgcaaggaaac gcccgctcgtg 960  
30 gccagccacg atagccgcgc tgcctcgtcc tgcagttcat tcagggcacc ggacaggtcg 1020  
gtcttgacaa aaagaaccgg gcgccccctg cgtgacagcc ggaacacggc ggcatcagag 1080  
cagccgattg tctgttgtgc ccagtcatag ccgaatagcc tctccacca agcgcccgga 1140  
gaactgcgt gcaatccatc ttgttcaatc atgcgaaacg atccagatcc ggtgcagatt 1200  
35 atttggattg agagtgaata tgagactcta attggatacc gaggggaatt tatggaacgt 1260  
cagtggagca tttttgacaa gaaatatttg ctagtgtata taaactccag aaaccgcgg 1380  
aacgcgcaat aatggtttct gacgtatgtg tctagctcat taaactccag aaaccgcgg 1440  
ctgagtggct ccttcaacgt tgcggttctg tcagttccaa acgtaaaacg gcttgtccc 1500  
cgtcatcgcc ggggggtcata acgtgactcc cttaattctc cgctcatgat cagattgtcg 1560  
40 tttccgcct tcagtttaaa ctatcagtggt ttgacaggat cctgcttggt aataattgtc 1620  
attagattgt ttttatgcat agatgcactc gaaatcagcc aatttttagac aagtatcaaa 1680  
cggatgttaa ttcagtacat taaagacgtc ccagccagcc aacagctccc cgaccggcag 1740  
aatttgttta caccacaata taccctgcca ccagccagcc gccgcatggt gttgaccgtg 1800  
ctcggcacaa aatcaccacg cgttaccacc acgcgggccc gaccgacccc gagcgggccc 1860  
45 ttcccgccga ttgccgagtt cgagcgttcc ctaatcatcg accgcacccc ctaccctcac cccggcacag 1920  
gaggccgcca agggccgagg cgtgaagttt ggaaggccgca ccgtgaaaga ggcggctgca 1980  
atcgcgcacg cccgcgagct gatcgaccag cgcgcaactg agcgacgca ggaagtgcg 2040  
ctgcttgccg tgcacgctc gaccctgtac cgtgaggacg cattgaccga ggcgcagccc 2100  
cccaccgagg ccaggcgccg cgggtgcctc cgtgaggacg gaaaccgcac caggacggcc 2160  
50 ctggcgcccg ccgagaatga acgccaagag gaacaagcat gatgatcgcg gccgggtacg 2220  
aggacgaacc gtttttcatt accgaagaga tgcaggcgga tgaaatcctg gccgggttgt 2280  
ctgatgcaa gctggcgcc tggccggcca gcttggccgc tgaagaaacc gagcgccgcc 2340  
gtctaaaaag gtgatgtgta tttgagtaaa acagcttgcg tcatgcggtc gctgcgtata 2400  
55 tgatgcatg agtaataaaa caaatcgcga aggggaacgc atgaaggta tcgctgtact 2460  
taaccagaaa ggcgggtcag gcaagacgac catcgcaacc catctagccc gcgccctgca 2520  
actcgccggg gccgatgttc tgttagtcga ttccgatccc cagggcagtg cccgcgattg 2580  
ggcgccggg cggaagatc aaccgctaac cgttgtcgcc atcgaccgcc cgacgatga 2640  
ccgcgacgtg aaggccatcg gccggcgcca cttcgtagt gtgctgattc cgggtgcagcc 2700  
ggcggaactg gctgtgtccg cgatcaaggc agccgacttc ctggttaagc agcgattga 2760  
60 aagcccttac gacatatggg ccaccgcga cctggtggag ctggttaagc agcgattga 2820  
ggtcacggat ggaaggctac aagcggcctt tgtcgtgtcg cgggcgatca aaggcacgcg 2880  
catcgcggt gaggttgccg aggcgctggc cgggtacgag ctgcccattc ttgagtcgg 2940  
tatcacgcag cgcgtgagct acccaggcac tgcgcggcc gccgctgaaa ttaaatcaaa 3000  
agaacccgag ggcgacgct cccgcgaggt ccaggcgctg gccgctgaaa ttaaatcaaa 3060  
65 actcatttga gttaatgagg taaagagaaa atgagcaaaa gcacaaacac gctaagtggc 3120

## 30

	ggccgtccga	gcgacgcag	cagcaaggct	gcaacgttgg	ccagcctggc	agacacgcca	3180
	gccatgaagc	gggtcaactt	tcagttgccc	gcggaaggatc	acaccaagct	gaagatgtac	3240
	gcggtacgcc	aaggcaagac	cattaccgag	ctgctatctg	aatacatcgc	gcagctacca	3300
	gagtaaataa	gcaaataaat	aaatgagtag	atgaatttta	gcggtctaaag	gaggcgccat	3360
5	ggaaaatcaa	gaacaaccag	gcaccgacgc	cgtggaatgc	cccatgtgtg	gaggaacggg	3420
	cggttggcca	ggcgtaagcg	gctgggttgt	ctgccggccc	tgcaatggca	ctggaacccc	3480
	caagcccagag	gaatcggcgt	gagcgtcgc	aaaccatccg	gcccgggtaca	aatcggcgcg	3540
	gcgctgggtg	atgacctggt	ggagaagtgt	aaggccgcgc	aggccgccc	gcggcaacgc	3600
	atcgaggcag	aagcacgccc	cggatgaatcg	tggcaagcgg	ccgctgatcg	aatccgcaaa	3660
10	gaatcccggc	aaccgcccgc	agccggtgcg	ccgtcgatta	ggaagccgcc	caagggcgac	3720
	gagcaaccag	atcttttctg	tcgatgctc	tatgacgtgg	gcacccgcga	tagtcgcagc	3780
	atcatggacg	tggccgtttt	ccgtctgtcg	aagcgtgacc	gacgagctgg	cgagtgatc	3840
	cgctacgagc	ttccagacgg	gcacgtagag	gtttcccgag	ggccggccgg	catggccagt	3900
	gtgtgggatt	acgacctggt	actgatggcg	gtttcccatc	taaccgaatc	catgaaccga	3960
15	taccgggaag	ggaagggaga	caagcccggc	cgcgtgttcc	gtccacacgt	tgccgacgta	4020
	ctcaagttct	gccggcgagc	cgatggcgga	aagcagaaaag	acgacctggt	agaaacctgc	4080
	attcgtttaa	acaccacgca	cgttgccatg	cagcgtacga	agaaggccaa	gaacggccgc	4140
	ctggtgacgg	tatccgaggg	tgaagccttg	attagccgct	acaagatcgt	aaagagcgaa	4200
	accggggcgg	cggagtagat	cgagatcgag	ctagctgatt	ggatgtaccg	cgagatcaca	4260
20	gaaggcaaga	acccggacgt	gctgacgggt	caccccgatt	actttttgat	cgatcccggc	4320
	atcgggcgtt	ttctctaccg	cctggcacgc	cgccgcccag	gcaaggcaga	agccagatgg	4380
	ttgttcaaga	cgatctacga	acgcagtggc	agcgcgggag	agttcaagaa	gttctgtttc	4440
	accgtgcccga	agctgatcgg	gtcaaatgac	ctgcgggagt	acgatttgaa	ggaggaggcg	4500
	ggcgaggctg	gcccgatcct	agtcattgccc	taccgcaacc	tgatcgaggg	cgaaagcatcc	4560
25	gcccgttctt	aatgtacgga	gcagatgcta	gggcaaatgt	ccctagcagg	ggaaaaaggt	4620
	cgaaaagggtc	tctttcctgt	ggatagcacg	tacattggga	acccaaagcc	gtacattggg	4680
	aaccggaaacc	cgtacattgg	gaacccaaag	ccgtacattg	ggaacccggtc	acacatgtaa	4740
	gtgactgata	taaaagagaa	aaaaggcgat	ttttccgctt	aaaactcttt	aaaactttatt	4800
	aaaactctta	aaacccgctt	ggcctgtgca	taactgtctg	gccagcgcac	agccgaagag	4860
30	ctgcaaaaag	cgcctaccct	tcggctcgctg	cgctccctac	gccccgccc	ttcgcgtcgg	4920
	cctatcgccg	ccgctggccg	ctcaaaaatg	gctggcctac	ggccaggcaa	tctaccaggg	4980
	cgccggacaag	ccgcgccgctc	gccactcgac	cgccggccgc	cacatcaagg	caccctgcct	5040
	cgccgctttc	gtgatgacg	gtgaaaacct	ctgacacatg	cagctcccgg	agacggtcac	5100
	agcttctctg	taagcggatg	ccgggagcag	acaagcccg	cagggcgccg	cagcgggtgt	5160
35	tggcgggtgt	cggggcccag	ccatgaccca	gtcacgtagc	gatagcggag	gtatagctgg	5220
	cttaactatg	cgccatcaga	gcagattgta	ctgagagtgc	accatatgcg	gtgtgaaata	5280
	ccgcacagat	gcgtaaggag	aaaataaccg	atcacgctgc	cttccgcttc	ctcgctcact	5340
	gactcgctgc	gctcggctgt	tcggctgccc	cgagcgggat	cagctcactc	aaaggcggtg	5400
	atagcgttat	ccacagaatc	aggggataac	gcaggaaaga	acatgtgagc	aaaaggccag	5460
40	caaaaggcca	ggaaccgtaa	aaaggccgcg	ttgctggcgt	ttttccatag	gctccgccc	5520
	cctgacgagc	atcacaaaaa	tcgacgctca	agtcagaggt	ggcgaaaacc	gacaggacta	5580
	taaagatacc	aggcggttcc	ccctggaaag	tcctctgctg	gctctcctgt	tcggacctg	5640
	cgccttaccg	gatacctgtc	cgcctttctc	ccttcgggaa	gcgtggcgct	ttctcatagc	5700
	tcacgctgta	ggtatctcag	ttcggtgtag	gtcgttcgct	ccaagctggg	ctgtgtgac	5760
45	gaaccccccg	ttcagcccga	ccgctgcgcc	ttatccggta	actatcgtct	tgatcccaac	5820
	ccggtaagac	acgacttatc	gccactggca	gtacccactg	gtaacaggat	tagcagagcg	5880
	aggatgtatg	gcggtgctac	agagtctctg	aagtgggtgg	ctaactacgg	ctacactaga	5940
	aggacagtat	ttggtatctg	cgtctgctg	aagccagtta	ccttcggaaa	aagagttggt	6000
	agctcttgat	ccggcaaaaca	aaccaccgct	ggtagcgggtg	gtttttttgt	ttgcaagcag	6060
50	cagattacgc	gcagaaaaaa	aggatctcaa	gaagatcctt	tgatcttttc	tacggggtct	6120
	gacgctcagt	ggaacgaaaa	ctcacgttaa	gggatttttg	tcatgcatga	tatatctccc	6180
	aatctgtgta	gggcttatta	tgcacgctta	aaaataataa	aagcagactt	gacctgatag	6240
	tttggtgtgt	agcaattatg	tgcttagtgc	atctaaccgt	tgagttaagc	cgccgcccga	6300
	agcggcgctg	gcttgaacga	atctctagct	agacattatt	tgccgactac	cttgggtgatc	6360
55	tcgcctttca	cgtagtggac	aaattcttcc	aactgatctg	cgccgaggcg	caagcgatct	6420
	tcttcttctg	caagataagc	ctgtctagct	tcaagtatga	cgggctgata	ctgggcccgc	6480
	aggcgctcca	ttgcccagtc	ggcagcgaca	tccttcggcg	cgattttgcc	ggttactgcg	6540
	ctgtaccaaa	tgccgggaca	cgtaagcaat	acatttcgct	catcgccagc	ccagtcgggc	6600
	ggcgagttcc	atagcgtaaa	ggtttgcatt	agcgcctcaa	atagatcctg	tcagggaacc	6660
60	ggatcaaaga	gttccctcgc	cgtcgacact	accaaggcaa	cgctatgttc	tcttgctttt	6720
	gtcagcaaga	tagccagatc	aatgtcgatc	gtggctggct	cgaagatacc	tgcaagaatg	6780
	tcattgcgct	gccattctcc	aaattgcagt	tcgcgcttag	ctggataacg	ccacggaatg	6840
	atgtcgtcgt	gcacaacaat	ggtgacttct	acagcgcgga	gaatctcgtc	ctctccaggg	6900
	gaagccgaag	tttccaaaag	gtcgttgatc	aaagctcgcc	gcgttggttc	atcaagcctt	6960
65	acggtcaccg	taaccagcaa	atcaatatca	ctgtgtggct	tcaggccgcc	atccactgcg	7020
	gagccgtaca	aatgtacggc	cagcaacgtc	ggttcagatg	ggcgctcgat	gacgccaact	7080

## 31

acctctgata gttgagtcga tacttccggcg atcaccgctt ccccatgat gtttaacttt 7140  
gttttagggc gactgccctg ctgogtaaca tcgttgctgc tccataacat caaacatcga 7200  
cccacggcgt aacgcgcttg ctgcttggtg gcccgaggca tagactgtac ccaaaaaaa 7260  
cagtcataac aagccatgaa aaccgccact gcgggggttc catggacata caaatggacg 7320  
5 aacggataaa ccttttcacg cctttttaa tatccgatta ttctaataaa cgctcttttc 7380  
tcttaggttt acccgccaat atatactgtc aaacactgat agtttaaaact gaaggcgagg 7440  
aacgacaatc agatctagta ggaaacagct atgaccatga ttacgccaag cttgcatgcc 7500  
tgcaggtcga ctctagagga tcgatccccg ggtaggtcag tcccttatgt tacgtcctgt 7560  
agaaaccca acccgtgaaa tcaaaaaact cgacggcctg tgggcattca gtctggatcg 7620  
10 cgaaaactgt ggaattggtc agcgttggtg ggaaagcgcg ttacaagaaa gccgggcaat 7680  
tgctgtgcca ggcagtttta acgatcagtt cgccgatgca gatattcgta attatgctgg 7740  
caacgtctgg tatcagcgcg aagtctttat accgaaaggt tgggcaggcc agcgtatcgt 7800  
gctgcgtttc gatgcggtca ctctattacg caaagtgtgg gtcaataatc aggaagtgat 7860  
ggagcatcag ggcggctata cgccatttga agccgatgc acgccgtatg ttattgctgg 7920  
15 gaaaagtgtc cgtaaagttt tgcttctacc tttgatata atataataat tatcatat 7980  
tagtagtaat ataataattt aaataatttt ttcaaaataa aagaatgtag tataatagca 8040  
ttgctttttc gtagtttata agtgtgtata ttttaattta taacttttct aatatatgac 8100  
caaaatttgt tgatgtgcag gtatcacctg aaacggcaag aaaaagcagt cttacttcca 8220  
20 tatcccgccg ggaatgggtg ttaccgacga aacggcaag ctctacacca cgccgaacac 8280  
tgatttcttt aactatgccg gaatccatcg cagcgtaatg ctctacacca cgccgaacac 8340  
ctgggtggac gatatacccg tgggtgacgca tgctcgcgaa gactgtaacc acgctatcgt 8400  
tgactggcag gtggtggcca atggtgatgt cagcgttgaa gtggtgaatc cgcacctctg 8460  
ggtggttgca actggacaag gcactagcgg gactttgcaa gtgctgaca gccaaaagcc agacagagtg 8520  
25 gcaacgggtg gaaggttatc tctatgaact gtgctgaca gtgaagggcg aacagttcct 8580  
tgatatctac ccgcttcgcg tccgcatccg gtccagtggc catgaagatg cggagtctgc 8640  
gattaaccac aaaccgttct actttactgg ctttggtcgt catgaagatg actggattgg 8700  
tggcaaagga ttcgataacg tgctgatggt gcacgaccac gcattaatgg actgggcaga 8760  
ggccaactcc taccgtacct cgcattaccc tgctgctgct agaactgtac agcgaagagg cagtcaacgg 8820  
30 tgaacatggc atcgtggtga ttgatgaac acaagccgaa taaagagctg atagcgcgtg acaaaaacca 8880  
cattgggttc gaagcgggca tacaggcgat gtattgccaa gcaaccggat acccgtccgc aaggtgcacg 9000  
ggaaactcag gtgatgtgga ggaagcaac gcgtaaactc gaccgacgc gtccgatcac 9060  
cccaagcgtg ggcgcactgg cggaagcaac caccgatacc atcagcgatc tctttgatgt 9120  
35 ggaatatttc ctgctgcaat gtaatgttct acggatggta tgctccaaagc ggcgatttgg aaacggcaga 9180  
gctgtgcctg aaccgttatt gaaaaagaac ttctggcctg gcaggagaaa atgtacaccg acatgtggag 9300  
gaaggtactg ggcgtggata cgctgactca gctgcaacta gtatcaccgc gtctttgatc gcgtcagcgc 9360  
caccgaatac ggcgtggata cagtgtgcat ggtggatgat cgattttgctg acctcgcaag gcatattgctg 9420  
40 tgaagagtat cgtcgtcggg gaacaggtat ggaatttcgc tgcgcaccgc aaaccgaagt cggcggcttt 9480  
cgttggcggg tctgctgcaa aaacgctgga ctggcatgaa cttcgggtga gcaataaagn ttcttaagat 9600  
acaatgagag ctgcaatttc cccgatcggg gcgatgatta tcatataatt tctgttgaat atgggttttt 9660  
45 tgaatcctgt tgccggtctt tgcatgacgt tatttatgag atancgcgca atcaggata 9720  
atgtaataat taacatgtaa tacgcgatag aaaacaaaat attcccatgc ctcgaggatc 9840  
tcccgcatt atacttttaa tctatgttac tagatcgga taataattct tgagttgatt 9900  
aattatcgcg cgcggtgtca agtaacatgc tgctacggtt tgcttagata catgaagtaa catgctccta 9960  
50 taacatgctt agatacatga tgtatataca atatttctaat aaatcagtat gttttaaatt 10020  
tttactggta cttagataga gtagtacctat tatatatata attatttgagt gcctataatt tctaataaat 10140  
cagtttcttt aatcattatt tagatagatg atatatata attatttgagt gcttataatt tacaatgct 10200  
atatttgatt tactggtact tagatagatg cggttttagtc tgattttact ggtacttaga tagatgtata ttaggtacct 10260  
catgaagtaa catgctgcta taaattattt tgattttact aagtaatatg ctactacggt ttaattgttc cttagataga 10320  
45 caaacatgct tagatacatg ataatcagt atgtttttaa ttatttcgat tttactggta ttgttcttga 10380  
atatattcta ataatcagt ataatcagt ataatcagt ttttaattat ttcgatttta ctggtactta 10440  
55 tgtatatata catgcttaga tacatgaagt aacatgctac ttttaattat ttcgatttta ctggtactta 10500  
atacctata attctaataa atcagtatgt ttttaattat ttcgatttta ctggtactta 10560  
gatagatgta tatatacatg ctgcaacatg cttagataga tgaagtaaca tgctacatat 10620  
atattataat aatcagtat gtcttaaaatt attttgattt tactggtact tagatagatg 10680  
60 tatatacatg ctcaaacatg cttagataga tgaagtaaca aattggtttg gatacgtgaa gtaacatgct 10740  
tattgagtac ctatatattc taataaatca gatgttttc aacatgctta gatacgtgaa gtaacatgct 10800  
tacttagata tatgtatata tacatgctcg aacatgctta gatacgtgaa gtaacatgct 10860  
actatgggta attgttcttg agtacctata tattctaata aatcagtatg gctcgaacat gcttagatag 10920  
tttcgatttt actggtactt agatagatgt atatatatc cctatatatt ctaataaatc 10980  
65 atgaagtaac atgctactac ggtttaatcg gtatttactg gattttactg ataggtatat acatgcttag 10980  
agtatgtctt aaattatctt gattttactg atcgttcttg agtacctata tattctaata 11040  
atacatgaag taacatgcta ctatgattta atcgttcttg agtacctata tattctaata 11040

## 32

```

aatcagtatg tttttaatta ttttgatttt actggtactt agatagatgt atatatacat 11100
gctcgaacat gcttagatac atgaagtaac atgctactac ggtttaatca ttcttgagta 11160
cctatatatt ctaataaatc agtatgtttt taattatttt gatattactg gtacttaaca 11220
tgtttagata catcatatag catgcacatg ctgctactgt ttaatcattc gtgaatacct 11280
5 atatattcta atatatcagt atgtcttcta attattatga ttttgatgta cttgtatggg 11340
ggcatatgct gcagctatgt gtagattttg aataccaggt gtgatgagca tgcattggcg 11400
cttcatagtt catatgctgt ttatttcctt tgagactgtt cttttttgtt gatagtcacc 11460
ctgttggttg gtgatttcta tgcacccggg gatcctctag agtcgacctg caggcgcccg 11520
cactagtgat taggattcca acgcgagcca ggacaagcga ggaaccttgc gtgcgaggcg 11580
10 aggccgcccc gctccgattc gattcgagcg gcaggcgagc gcgcagggat ggacgccttc 11640
tactcgacct cgtcggcgcc ggcgagcgcc tggggccacg actccctcaa gaacttccgc 11700
cagatctccc ccgccgtgca gtcccacctc aagctcgttt acctgactct atgctttgca 11760
ctggcctcat ctgccgtggg tgcttaccta cacattgccc tgaacatcgg cgggatgctg 11820
acaatgctcg cttgtgtcgg aactatcgcc tggatgttct cggtgccagt ctatgaggag 11880
15 aggaagaggt ttgggctgct gatgggtgca gccctcctgg aaggggcttc ggttggacct 11940
ctgattgagc ttgccataga ctttgaccca agcatcctcg tgacagggtt tgcggaacc 12000
gccatcgctt ttgggtgctt ctctggcgcc gccatcatcg cccatcctcg cggatagctg 12060
tacctcggtg gcctgctctc gtctggcctg tcatcctgc tctggctgca gtttgtcacg 12120
tccacttttg gccactcctc tggcagcttc atgtttgagg ttacttttg cctgttgatc 12180
20 ttcttggggt acatggtgta cgacacgcag gagatcatcg agaggcgca ccatggcgac 12240
atggactaca tcaagcacgc cctcaccttc ttcaccgact ttgttgccgt cctcgtccga 12300
gtcctcatca tcatgctcaa gaacgcaggg gacaagtcgg aggacaagaa gaagaggaa 12360
agggggctct gaacgtwtct cccgcacatg tagataccgt caccgcgtcg acctgcaggc 12420
atggccgctg aaatcaccag tctctctcta caaatctatc tctctcataa taatgtgtga 12480
35 gtagttccca gataaggaa ttagggttct tatagggttt cgctcatgtg ttgagcatat 12540
aagaaacct tagtatgtat ttgtatttgt aaaatacttc tatcaataaa atttctaatt 12600
cctaaaacca aaatccagt ggtaccgagc tgc 12633

```

30 <210> 35  
 <211> 5598  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

35 <220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: recombinant  
 expression vector pOXoBI-1

```

<400> 35
40 ggggatcctc tagagtgcac ctgcaggcgg ccgcactagt gattaggatt ccaacgcgag 60
ccaggacaag cgaggaacct tgcgtgcgag gcgaggccgc cccgctccga ttcgattcga 120
cgcgaggcgg caggcgagcg gatggacgac ttctactcga cctcgtcggc ggcggcgagc 180
ggctgggggc acgactcctt caagaacttc cgccagatct ccccgccgtt gcagtcccac 240
ctcaagctcg ttacactgac tctatgcttt gcactggcct catctgccgt ggggtgctac 300
45 ctacacattg ccctgaacat cggcggggatg ctgacaatgc tgcgttgtgt cgggaactatc 360
gcctggatgt tctcgggtgc agtctatgag gagaggaaag gggttgggct gctgatgggt 420
gcagccctcc ttggaaggggc ttctgttggg cctctgattg agcttgccat agactttgac 480
ccaagcatcc tctgtgacag gtttgtcgga accgccatcg cctttgggtg cttctctggc 540
gccgccatca tgcgaagcg cagggaagtag ctgtacctcg gtggcctgct ctcgtctggc 600
50 ctgtcgatcc tgctctggct gcagtttgtc acgtccatct ttggccactc ctctggcagc 660
ttcatgtttg aggtttactt tggcctgttg atcttcttgg ggtacatggt gtacgacagc 720
caggagatca tgcgaggggc gcacctggc gacatggact acatcaagca cgccctcacc 780
ctcttcaccg actttgttgc cgtcctcgtc cgagtccctc tcatcatgct caagaacgca 840
ggcgacaagt cggaggacaa gaagaagagg aagagggggg cctgaacgtw tctccgcac 900
55 atgtagatac cgtcaccgcg tcgacctgca ggcatgcccg ctgaaatcac cagtctctct 960
ctacaaatct atctctctca taataatgtg tgagtagttc ccagataagg gaattagggt 1020
tcttataggg ttctgtctat gtgttgagca tataagaaac ccttagtatg tatttgtatt 1080
tgtaaaatac ttctatcaat aaaatttcta attcctaaaa ccaaaatcca gtgggtaccg 1140
agctcgaatt caagcttggc actggccgct gttttacaac tgcgtgactg gaaaaacct 1200
60 ggcgttacc cacttaatcg ccttgacgca catcccctt tgcgcagctg gcgtaatagc 1260
gaagaggccc gcaccgatcg ccttcccaa cagttgcgca gcctgaatgg cgaatggcg 1320
ctgatcggtt attttctct tacgcatctg tgcggtattt cacaccgcat atggtgcact 1380
ctcagtacaa tctgtcttga tgccgcatag ttaagccagc cctacagaca agctgtgacc 1440
gctgacgcgc cctgacgggc ttgtctgtct cgggcacccg cccgacaccc agctgtgacc 1500
65 gtctccggga gctgcatgtg tcagagggtt tcaccgtcat caccgaaacg gcgagacgca 1560
aaggccctcg tgatacgccct atttttatag gttaatgtca tgataataat ggtttcttag 1620

```

## 33

acgtcaggtg gcactttttcg gggaaatgtg cgcggaaccc ctatttgttt attttttctaa 1680  
atacattcaa atatgtatcc gctcatgaga caataaccct gataaatgct tcaataatat 1740  
tgaaaaagga agagtatgag tattcaacat ttccgtgtcg cccttattcc cttttttgcg 1800  
gcatttttggc ttctgtttt tgctcaccca gaaacgctgg tgaaagttaa agatgctgaa 1860  
gatcagttgg gtgcacgagt gggttacatc gaactggatc tcaacagcgg taagatcctt 1920  
gagagttttc gcccgaaga acgtttttcca atgatgagca ctttttaaagt tctgctatgt 1980  
ggcgcggtat tatcccgat tgacgccggg caagagcaac tccgtcgcgg catacactat 2040  
tctcagaatg acttggttga gtactcacca gtcacagaaa agcatcttac ggtaggcatg 2100  
acagtaagag aattatgcag tgctgccata accatgagtg ataacactgc ggccaactta 2160  
cttctgacaa cgatcgagg accgaaggag ctaaccgctt ttttgcaaa catgggggat 2220  
catgtaactc gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg aagccatacc aaacgacgag 2280  
cgtgacacca cgatgcctgt agcaatggca acaacgttgc gcaaactatt aactggcgaa 2340  
ctacttactc tagcttcccg gcaacaatta atagactgga tggaggcgga taaagtgtga 2400  
ggaccacttc tgcgctcggc ccttcggctt ggctggttta ttgctgataa atctggagcc 2460  
ggtagcgtg ggtctcgcgg tatcattgca gcactggggc cagatggtaa gccctcccgt 2520  
atcgtagtta tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg atgaacgaaa tagacagatc 2580  
gctgagatag gtgcctcact gattaagcat tggtaactgt cagaccaagt ttactcatat 2640  
atacttttaga ttgattttaa acttcatttt taatttaaaa ggatctaggt gaagatcctt 2700  
tttgataatc tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac 2760  
cccgtagaaa agatcaaaag atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc 2820  
ttgcaaacaa aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca agagctacca 2880  
actctttttc cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgttcttcta 2940  
gtgtagccgt agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcctac atacctcgt 3000  
ctgctaactc tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg 3060  
gactcaagac gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc 3120  
acacagccca gcttgagcg aacgacctac accgaactga gatacctaca gcgtgagctt 3180  
tgagaaagcg ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg 3240  
gtcggaaacag gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa acgcctggta tctttatagt 3300  
cctgtcgggt ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgtc gtcagggggg 3360  
cggagcctat ggaaaaacgc cagcaacgcg gcctttttac ggttcctggc cttttgtctg 3420  
ccttttgctc acatgttctt tccctgcgtta tccccgtatt ctgtggataa ccgtattacc 3480  
gcctttgagt gagctgatac cgctcgcgcg agccgaacga cccgcgcgcg cgagtcagt 3540  
agcgaggaag cggaagagcg cccaatacgc aaaccgcctc tccccgcgcg ttggccgatt 3600  
cattaatgca gctggcacga caggtttccc gactggaaag cgggcagtga gcgcaacgca 3660  
attaatgtga gttagctcac tcattaggca ccccaggctt tacactttat gcttccggt 3720  
cgtatgttgt gtggaattgt gagcggataa caatttcaca caggaaacag ctatgacct 3780  
gattacgaat tcccatgcct cgagcagaaa gatataatat gtaaaaaaat gggctctatat 3840  
atatggaagg tttcaggaag acaaaggttc tagaaacttc caaaaaaat ccagaatata 3900  
ttttggaaga aataccctct tgggttggcc ccggcgcagc ccctagtggg ccaaaaagcc 3960  
acgatctaata cccggtctaa ttggtctaata agtttagact tctaattaga cgggctctta 4020  
tgccggtcta attggtctaa ttagattaaa atcctaatta aatatgaacg caactaggct 4080  
tcccctctct ctagttttct cggagctctt ttctatggac cttgaagtat tgccggatca 4140  
ctacttcgga actcgtggat acttcagagt gcacatctac tttgaatctt gattggtaga 4200  
tcatctcgga gaaattctca cagttgggag gtataaccag ttgccgaaat tgccatgctt 4260  
cactcacagc caggatcagc ccctgcattt ttgcatgttc atgtgacag agatgagtat cctacaatat 4320  
tgactacttg gggcctcgcg ccctgcattt tgcattgttc agatgagtat cctacaatat 4440  
agagaaatag attactaaat atcacccatt taaactgtgg taggtgagaa agatctatta aaaagaactc 4500  
gtataccgaa aaatgtatct taaactgtgg taggtgagaa agatctatta aaaagaactc 4560  
tacgtatact cccccctccc aatccccatc caggtttgta agacactttc gtcttttttt 4620  
gccgaatttt aaccgtaaat ttgactagta aaaataagtt gctggctggg ggcgtggatg gatcacggtc 4680  
cgtacattcg gatgttggag acagggagag gttgattgcc actgacaacc aagttttcgt 4740  
agaaagtctg acttgcaacg ccacaggccc gaatatttta actgacgagg gaaaggcaag 4800  
tgtttcgctg gtgccatatt ttccgcgatc ctgatcgatc agtagtagcc accttctctg 4860  
cagggcgcca tatcagcact tgatcactca ctgatcgatc agtagtagcc accttctctg 4920  
cgccgacgtg ttatatatta ttggcaacaa cgcgagcgag tagcctccca tttctgacga 4980  
aagagaacta tttgagagag agtagttacg ccgcagcgag gcaagggttg aatgccaaca 5040  
tcattgccata cgataaacgg gccggcgggc agaccagtta gcatgacagg cctgggacac 5100  
catgtcgcgc tcattttctg gctttttcat tttgcatgtc gtcatgcagg agcagcccc 5160  
tgacatttct ctcttttgct gttgaatgaa gaccctaacc atgagtaatg gtgtgcacga 5220  
tcaacttgat aagcctagac gaaaccata tgcatgattg tccattgaga tacacctct ccttgatatc 5280  
atattatgaa cccgttttcca agagcaatac cagtggcctt gactctgact gccacgcaag 5340  
gttcgttggg cccatttcca tagcagccgg cctcgtgtgt ccatttgcaa atgcagcag 5400  
taataatatc ttaataaact cgctgccttg ctccatgcac cactgcttc cattaatccc 5460  
tgacgacatg cacatgcata gcttaattag ctactcatcc accacagctt agcagcagca 5520  
ctatataaag gactccatat gctcaccatc caaactctag ctgatcaatc ctagctaagc 5580  
acaaccagtg ccatagacac tctccatcaa

ttattacata gcaagccc

5598

<210> 36  
5 <211> 12776  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
10 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: recombinant  
expression vector pLol140XoBI-1

<400> 36  
15 aattcactgg cgcgtcgtttt acaacgactc agagcttgac aggaggcccg atctagtaac 60  
atagatgaca ccgcgcgcga taatttatcc tagtttgccg gctatatattt gttttctatc 120  
gcgtattaaa tgtataattg cgggactcta atcataaaaa cccatctcat aaataacgtc 180  
atgcattaca tgtaattat tacatgctta acgtaattca acagaaatta tatgataatc 240  
atcgcaagac cggcaacagg attcaatctt aagaaacttt attgccaaat gtttgaacga 300  
tcgggggatca tccgggtctg tggcgggaac tccacgaaaa tatccgaacg cagcaagatc 360  
20 tagagcttgg gtcccgtca gaagaactcg tcaagaaggc gatagaaggc gatgcgctgc 420  
gaatcgggag cggcgatacc gtaaagcacg aggaagcggg cagcccattc gccgccaagc 480  
tcttcagcaa tatcacgggt agccaacgct atgtcctgat agcgggtccg cacaccagc 540  
cggccacagt cgatgaatcc agaaaagcgg ccattttcca ccattgatatt cggcaagcag 600  
gcacgcgcat gggtcacgac gagatcctcg ccgtcgggca tgcgcgcctt gaggcctggcg 660  
25 aacagtccgg ctggcgcgag cccctgatgc tcttcgtcca gatcatcctg atcgacaaga 720  
ccggcttcca tccgagtacg tgctcgtctg atgcgatgtt tcgcttggtg gtcgaatggg 780  
caggtagccg gatcaagcgt atgcagccgc cgcattgcat cagccatgat ggatactttc 840  
tcggcaggag caagggtgaga tgacaggaga tccctgccccg gcaacttcgcc caatagcagc 900  
cagtcccttc ccgcttcagt gacaacgtcg agcacagctg cgcaaggaaac gcccgctcgtg 960  
30 gccagccaag atagccgcgc tgcctcgccc tgccagttcat tcagggcacc ggacaggctcg 1020  
gtcttgacaa aaagaaccgg gcgccccctgc gctgacagcc ggaacacggc ggcatcagag 1080  
cagccgattg tctgtttgtgc ccagtcatac ccgaatagcc tctccacca agcggccgga 1140  
gaacctgcgt gcaatccatc ttgttcaatc atgcgaaacg atccagatcc ggtgcagatt 1200  
35 atttgattg agagtgaata tgagactcta attgatacc gaggggaatt tatggaacct 1260  
cagtggagca tttttgacaa gaaatatttg ctagctgata gtgaccttag gcgacttttg 1320  
aacgcgcaat aatggtttct gacgtatgtg cttagctcat taaactccag aaaccgcggg 1380  
ctgagtgggt ccttcaacgt tgccggttctg tcagttccaa acgtaaaaacg gcttgtcccg 1440  
cgtcatcggc gggggtcata acgtgactcc ctttaattctc cgctcatgat cagattgtcg 1500  
40 tttccgcctc tcagtttaaa ctatcagtgt ttgacaggat cctgcttggt aataattgtc 1560  
attagattgt ttttatgcat agatgactc gaaatcagcc aatttttagac aagtatcaaa 1620  
cggatgttaa ttcagtacat taaagacgtc cgcaatgtgt tattaagtgt tctaagcgtc 1680  
aatttgttta caccacaata tatcctgcca ccagccagcc aacagctccc cgaccggcag 1740  
ctcggcaca aatcaccacg cgttaccacc acgcccggcg gccgcatggt gttgaccgtg 1800  
45 ttcgcggcca ttgcccagtt cgagcgttcc ctaatcatcg accgcacccg gagecggcgc 1860  
gaggccgcca agggccgagg cgtgaagttt ggcccccgcc ctaccctcac cccggcacag 1920  
atcgcgcacg cccgcgagct gatcgaccag gaaggccgca ccgtgaaaga ggcggctgca 1980  
ctgcttggcg tgcacgcctc gaccctgtac cgcgcacttg agcgcagcga ggaagtgcg 2040  
cccaccgagg ccaggcggcg cggtgccctc cgtgaggacg cattgaccga ggccgacgac 2100  
50 ctggcgggccc ccgagaatga accgcaagag tgcaggcgga gatgatcgcg gccgggtacg 2220  
tgttcgagcc gccgcgcac gtctcaaccg tgcggctgca tgaatcctg gccggtttgt 2280  
ctgatgccaa gctggcggcc tggccggcca gcttggccgc tgaagaaacc gagcgcgcgc 2340  
gtctaaaaaag gtgatgtgta tttgagttaa acagcttgcg tcatgcggtc gctgcgtata 2400  
55 tgatgcgatg agtaataaa caaatcgcga aggggaacgc atgaaggtta tcgctgtact 2460  
taaccagaaa ggcgggtcag gcaagacgac catcgcaacc catctagccc gcgccttgc 2520  
actcgccggg gccgatgttc tgtagtgcga ttccgatccc cagggcagtg cccgcgattg 2580  
ggcggccgtg cgggaagatc aaccgctaac cgttgctcggc atcgaccgac cgacgattga 2640  
ccgcgacgtg aaggccatcg gccggcgcca cttgctagtg atcgacggag gcccccaggc 2700  
ggcggacttg gctgtgtccg cgatcaaggc agccgacttc gtgctgattc cgggtgcagc 2760  
60 aagcccttac gacatatggg ccaccgcca cctggtggag ctggttaagc agcgcattga 2820  
ggtcacggat ggaaggctac aagcggcctt tgcgtgtcgc cgggcgatca aaggcacgcg 2880  
catcggcggt aggttgccg aggcgttgcc cgggtagcag ctgcccattc ttgagtcgg 2940  
tatcacgcag cgcgtgagct acccaggcac tgcgcgcgc gccacaaccg ttcttgaatc 3000  
agaacccgag ggcgacgctg cccgcgaggt ccaggcgtg gccgctgaaa ttaaatcaaa 3060  
65 actcatttga gttaatgagg taaagagaaa atgagcaaaa gcacaaacac gctaagtgc 3120  
ggccgtccga gcgcacgcag cagcaaggct gcaacgttgg ccagcctggc agacacgcca 3180



## 35

	gccatgaagc	gggtcaactt	tcagttgccc	gcggaggatc	acaccaagct	gaagatgtac	3240
	gcggtacgcc	aaggcaagac	cattaccgag	ctgctatctg	aatacatcgc	gcagctacca	3300
	gagtaaatga	gcaaatgaat	aaatgagtag	atgaatttta	gcggctaaag	gaggcgccat	3360
5	ggaaaatcaa	gaacaaccag	gcaccgacgc	ctgtggaatgc	cccatgtgtg	gaggaacggg	3420
	cggttggcca	ggcgtaagcg	gctgggttgt	ctgccggccc	tgcaatggca	ctggaacccc	3480
	caagcccag	gaatcggcgt	gagcggtcgc	aaaccatccg	gcccgggtaca	aatcggcgcg	3540
	gcgctgggtg	atgacctggt	ggagaagtgt	aaggccgcgc	aggccgccca	gcggcaacgc	3600
	atcgaggcag	aagcacgccc	cggtgaatcg	tggcaagcgg	ccgctgatcg	aatccgccaa	3660
	gaatcccggc	aaccgcccgc	agccggtgcg	ccgtcgatta	ggaagccgcc	caagggcgac	3720
10	gagcaaccag	atTTTTtctg	tccgatgctc	tatgacgtgg	gcaccgcgca	tagtcgcagc	3780
	atcatggacg	tggccgtttt	ccgtctgtcg	aagcgtgacc	gacgagctgg	cgaggtgatc	3840
	cgctacgagc	ttccagacgg	gcacgtagag	gtttccgcag	ggccggccgg	catcgccagt	3900
	gtgtgggatt	acgacctggt	actgatggcg	gtttcccatc	taaccgaatc	catgaaccga	3960
	taccgggaag	ggaagggaga	caagcccggc	cgctgtttcc	gtccacacgt	tgccgacgta	4020
15	ctcaagtctt	gccggcgagc	cgatggcgga	aagcagaaag	acgacctggt	agaaacctgc	4080
	attcgggttaa	acaccacgca	cgttgccatg	cagcgtacga	agaaggccaa	gaacggccgc	4140
	ctggtgacgg	tatccgaggg	tgaagccttg	attagccgct	acaagatcgt	aaagagcgaa	4200
	accggggcggc	cggagtacat	cgagatcgag	ctagctgatt	ggatgtaccg	cgagatcaca	4260
	gaaggcaaga	acccggacgt	gctgacgggt	caccccgatt	actttttgat	cgatcccgcc	4320
20	atcggccggt	ttctctaccg	cctggcacgc	cgccgcgcag	gcaaggcaga	agccagatgg	4380
	ttgttcaaga	cgatctacga	acgcagtggt	agctccggag	agttcaagaa	gttctgtttc	4440
	accgtgcgca	agctgatcgg	gtcaaatgac	ctgccggagt	acgatttgaa	ggaggaggcg	4500
	gggcaggctg	gcccgatcct	agtcatgcgc	taccgcaacc	tgatcgaggg	cgaagcatcc	4560
	gccggttcc	aatgtacgga	gcagatgcta	gggcaaattg	ccctagcagg	ggaaaaaggt	4620
25	cgaaaagggtc	tctttcctgt	ggatagcacg	tacattggga	acccaaagcc	gtacattggg	4680
	aaccgggaacc	cgtacattgg	gaacccaaag	ccgtacattg	ggaaccggtc	acacatgtaa	4740
	gtgactgata	taaaagagaa	aaaaggcgat	ttttccgcct	aaaactcttt	aaaacttatt	4800
	aaaactctta	aaaccgcgct	ggcctgtgca	taactgtctg	gccagcgcac	agccgaagag	4860
	ctgcaaaaag	cgcctaccct	tcggctcgctg	cgctccctac	gccccgcgcg	ttcgctcgg	4920
30	cctatcgacg	ccgctggcgg	ctcaaaaatg	gctggccctac	ggccaggcaa	tctaccagg	4980
	cgccgacaag	ccgcgcgctc	gccactcgac	cgccggcgcc	cacatcaagg	caccctgct	5040
	cgccgctttc	ggtgatgacg	gtgaaaacct	ctgacacatg	cagctcccgg	agacggtcac	5100
	agcttgtctg	taagcggatg	ccgggagcag	acaagcccg	cagggcgcg	cagcgggtgt	5160
35	tggcgggtgt	cggggcgag	ccatgaccca	gtcagctagc	gatagcggag	tgtatactgg	5220
	cttaactatg	cgcatcaga	gcagatttga	ctgagatg	accatatg	gtgtgaaata	5280
	ccgcacagat	gcgtaaggag	aaaataccgc	atcaggcgct	cttccgcttc	ctcgctcact	5340
	gactcgctgc	gctcggctcg	tcggctgcgg	cgagcgggat	cagctcactc	aaaggcggtg	5400
	atacggttat	ccacagaatc	aggggataac	gcaggaaaga	acatgtgagc	aaaaggccag	5460
	caaaaggcca	ggaaccgtaa	aaaggccgcg	ttgtctggcg	ttttccatag	gtccgcggcc	5520
40	cctgacgagc	atcacaaaaa	tcgacgctca	agtcagaggt	ggcgaaaacc	gacaggacta	5580
	taaagatacc	aggcgtttcc	ccctggaagc	tcctctgtgc	gctctcctgt	tccgacctg	5640
	ccgcttaccg	gatacctgtc	cgcctttctc	ccttcgggaa	gcgtggcgct	ttctcatagc	5700
	tcacgctgta	ggtatctcag	ttcggtgtag	gtcggtcgtc	ccaagctggg	ctgtgtgcac	5760
45	gaaccccccg	ttcagccgca	ccgtgcgcgc	ttatccggta	actatcgtct	tgagtcacac	5820
	ccggtaagac	acgacttatc	gccactggca	gcagccactg	gtaacaggat	tagcagagcg	5880
	aggatgttag	gcggtgctac	agagttcttg	aagtgggtgg	ctaactacgg	ctacactaga	5940
	aggacagtat	ttggtatctg	cgtctgtgctg	aagccagtta	ccttcggaaa	aagagttggt	6000
	agctcttgat	ccggcaaaac	aaccaccgct	ggtagcgggtg	gtttttttgt	ttgcaagcag	6060
50	cagattacgc	gcagaaaaaa	aggatctcaa	gaagatcctt	tgatcttttc	tacggggtct	6120
	gacgctcagt	ggaacgaaaa	ctcacgttaa	gggatttttg	tcattgcatga	tatatctccc	6180
	aatttgtgta	gggcttatta	tgcacgctta	aaaataataa	aagcagactt	gacctgatag	6240
	tttggtctgtg	agcaattatg	tgcttagtgc	atctaaccgt	tgagttaagc	cgccgcgcga	6300
	agcggcgctg	cgttgaaacga	atttctagct	agacattatt	tgccgactac	cttgggtgatc	6360
55	tcgcttttca	cgtagtggac	aaattcttcc	aactgatctg	cgccgcgaggc	caagcgatct	6420
	tcttcttgtc	caagataagc	ctgtctagct	tcaagtatga	cgggctgata	ctgggcccgc	6480
	aggcgctcca	ttgcccagtc	ggcagcgaca	tccttcggcg	cgattttgcc	ggttactgcg	6540
	ctgtacaaaa	tgccgggacaa	cgtaagcact	acattctcgt	catcgccagc	ccagtcgggc	6600
	ggcgagttcc	atagcgttaa	ggtttcattt	agccctcaa	atagatcctg	ttcaggaaac	6660
60	ggatcaaaga	gttcctccgc	cgctggacct	accaaggcaa	cgctatgttc	tcttgctttt	6720
	gtcagcaaga	tagccagatc	aatgtcgatc	gtggctggct	cgaagatacc	tgcaagaatg	6780
	tcattgcgct	gccattctcc	aaattgcagt	tcgcgcttag	ctggataacg	ccacggaatg	6840
	atgtcgtcgt	gcacaacaat	ggtgacttct	acagcgcgga	gaatctcgct	ctctccaggg	6900
	gaagccgaag	tttccaaaag	gtcgttgatc	aaagctcgcc	gcgttggttc	atcaagcctt	6960
	acgggtcaccg	taaccagcaa	atcaatatca	ctgtgtggct	tcaggccggc	atccactgcg	7020
65	gagccgtaca	aatgtacggc	cagcaacgtc	ggttcgagat	ggcgctcgat	gacgccaact	7080
	acctctgata	gttgagtcga	tacttcggcg	atcaccgctt	ccccatgat	gtttaacttt	7140

	gttttagggc	gactgccttg	ctgcgtaaca	tcgttgctgc	tccataacat	caaacatcga	7200
	cccacggcgt	aacgcgcttg	ctgcttggat	gcccaggcca	tagactgtac	ccccaaaaaa	7260
	cagtcataac	aagccatgaa	aaccgccact	gcgggggttc	catggacata	caaattggacg	7320
5	aacggataaa	cctttttcacg	ccctttttaa	tatccgatta	ttctaataaa	cgctctttttc	7380
	tcttaggttt	accgcgcaat	atatcctgtc	aaacactgat	agtttaaact	gaaggcgggga	7440
	aacgacaatc	agatctagta	ggaaacagct	atgaccatga	ttacgccaag	cttgcatgcc	7500
	tgcaggtcga	ctctagagga	tcgatccccg	ggtaggtcag	tcccttatgt	tacgtcctgt	7560
	agaaacccca	accggtgaaa	tcaaaaaact	cgacggcctg	tgggcattca	gtctggatcg	7620
	cgaaaactgt	ggaattggtc	agcgttgggtg	ggaaagcgcg	ttacaagaaa	gccgggcaat	7680
10	tgctgtgcca	ggcagtttta	acgatcagtt	cgccgatgca	gatattcgta	attatgcggg	7740
	caacgtctgg	tatcagcgcg	aagtccttat	accgaagggt	tgggcaggcc	agcgtatcgt	7800
	gctgcgtttc	gatgcggtca	ctcattacgg	caaagtgtgg	gtcaataatc	aggaagtgat	7860
	ggagcatcag	ggcggctata	cgccatttga	agccgatgtc	acgccgtatg	ttattgccgg	7920
	gaaaagtgtg	cgtaagtttc	tgcttctacc	tttgatatat	atataataat	tatcattaat	7980
15	tagtagtaat	ataatatattc	aaatattttt	ttcaaaaata	aagaatgtag	tatatagcaa	8040
	ttgctttttc	gtagtttata	agtgtgtata	ttttaaattta	taacttttct	aatatattgc	8100
	caaaatttgt	tgatgtgcag	gtatcacctg	ttgtgtgaac	aacgaactga	actggcagac	8160
	tatccccgccg	ggaatgggtga	ttaccgacga	aaacggcaag	aaaaagcagt	cttacttcca	8220
	tgattttcttt	aactatgccg	gaatccatcg	cagcgtaatg	ctctacacca	cgccgaacac	8280
20	ctgggtggac	gatatcaccg	tggtgacgca	tgctgcgcaa	gactgtaacc	acgcgtctgt	8340
	tgactggcag	gtggtggcca	atggtgatgt	cagcggtgaa	ctgcgtgatg	ctggatcaaca	8400
	ggtggttgca	actggacaag	gcactagcgg	gactttgcaa	gtggtgaatc	cgcacctctg	8460
	gcaaccgggt	gaaggttatc	tctatgaact	gtgcgtcaca	gccaaaagcc	agacagagtg	8520
	tgatatctac	ccgcttcgcg	tcggcatccg	gtcagtgcca	gtgaagggcg	aacagttcct	8580
25	gattaaccac	aaaccgttct	actttactgg	ctttggtcgt	catgaagatg	cggacttgcg	8640
	tggcaaaagga	ttcgataacg	tgctgatggt	gcacgaccac	gcattaatgg	actggattgg	8700
	ggccaactcc	taccgtacct	cgcattaccc	ttacgctgaa	gagatgctcg	actgggcaga	8760
	tgaacatggc	atcgtggtga	ttgatgaaac	tgctgctgtc	ggctttaacc	tctcttttagg	8820
	cattggtttc	gaagcgggca	acaagccgaa	agaactgtac	agcgaagagg	cagtcaacgg	8880
30	ggaaactcag	caagcgcact	tacaggcgtg	taaagagctg	atagcgcgtg	acaaaaacca	8940
	cccaagcgtg	gtgatgtgga	gtattgccaa	cgaaccggat	accgcgtccg	aagggtgcacg	9000
	ggaatatttc	gcgccactgg	cggaagcaac	gcgtaaactc	gacccgacgc	gtccgatcac	9060
	ctgcgtcaat	gtaatgttct	gcgacgctca	caccgatacc	atcagcgatc	tctttgatgt	9120
	gctgtgcctg	aaccgttatt	acggatggta	tgctccaaagc	ggcgatttgg	aaacggcaga	9180
35	atagttttaga	cttctaatta	gacgggctct	tatgccggtc	taattgggtc	taattagatta	10080
	aaatccta	taaatatgaa	cgcaactagg	cttccccctc	ctctagtttt	ctcggagctc	10140
	tttttcatgg	accttgaagt	attgccggat	cactacttcg	gaactcgtgg	atacttcaga	10200
	gtgcacatct	actttgaatc	ttgattggta	gatcatctcg	gagaaattct	cacagttggg	10260
	aggataaacc	agttgccgaa	attgccatgc	ttcactcaca	gccaggatca	gccccatgtc	10320
50	caaggcaacc	ctttagctga	catgccgagg	cctgactact	tggggcctcg	cgccctgcat	10380
	ttttgcatgt	tcatgtgaca	cgttaaatgt	tgagagaaat	agattactaa	atatcaccga	10440
	tttcgttatt	ctagatgagt	atcctacaat	atgtataccg	aaaaatgtat	tttaaaactgt	10500
	ggtaggtgag	aaagatctat	taaaaagaac	tctacgtata	ctccccctc	ccaatcccca	10560
	tccaggtttg	taagacactt	tcgtcttttt	ttgccgaatt	ttaacctgta	atttgactag	10620
	taaaaataag	ttatactgaa	tgtaataaat	atcgtaacatt	cggatgttgg	agacagggag	10680
60	aggctggctg	gtgcgctgga	tggatcacgg	tcagaaagtc	tgacttgcaa	cgccacaggc	10740
	ccgttgattg	ccactgacaa	ccaagttttc	gttggttcgc	tgggtgccata	ttttccgcga	10800
	tcgaatattt	aaactgcgag	gagaaaaggca	agcagggcgc	catatcagca	cttgatcact	10860
	cactgatcga	tcagtagtag	ccaccttctc	tgcgcccagc	tggttatatat	tattggcaac	10920
	aagtcatcga	ttgagaacag	aaacaaaaca	agaagagaac	tatttgagag	agagtagtta	10980
65	cgccgcagcg	agtagcctcc	catttctgac	gatcatgcca	tacgataaac	cggccggcgg	11040
	cgagaccagt	tagcaaggtt	gaaatgccaa	cacatgtcgc	gtcattttct	cggcttttttc	11100



## 37

5 attttgcattg tcgtcatgca ggccttggac actgacattt ctctcttttg ctgttgaatg 11160  
aagaccctaa cctttcacca tcagcacgcc cctcaacttg ataagcctag acgaaacca 11220  
tatgcatgat tgatgagtaa tgggtgtcac gaattattatg aaccggttc caagagcaat 11280  
actccattga gatacacctc ctcttctgtat ctgttcgttg gtccatttc catagcagcc 11340  
ggcagtggcc ttgactctga ctgccacgca agtaatatat ctttaataaa ctgcgtgcct 11400  
tgcttcgtgt gtccatttgc aaatgcatgc agtgacgaca tgcacatgca tagcttaatt 11460  
agctccatgc atccactgct tccattaatc ccttatataa aggactccat atgcctcacc 11520  
attcactcat ccaccacagc ttagcagcag caacaaccag tgccatagac actctccatc 11580  
aacaaactct agctgatcaa tcctagctaa gcttattaca tagcaagccc ggggatcctc 11640  
10 tagagtcgac ctgcaggcgg ccgcactagt gattaggatt ccaacgcgag ccaggacaag 11700  
cgaggaacct tgcgtgcgag gcgaggccgc cccgctccga ttcgattcga cgcgaggcg 11760  
caggcgcagg gatggacgcc ttctactcga cctcgtcggc ggcggcgagc ggctggggcc 11820  
acgactccct caagaacttc cgccagatct cctcgtcggc gcagtccac ctcaagctcg 11880  
tttacctgac tctatgcttt gcactggcct catctgccgt ggggtgcttac ctacacattg 11940  
15 ccctgaacat cggcgggatg ctgacaatgc tcgcttgtgt cggaactatc gcctggatgt 12000  
tctcggtgcc agtctatgag gagaggaaga ggtttgggct gctgatgggt gcagccctcc 12060  
tggaaggggc ttcggttgga cctctgattg agcttgccat agactttgac ccaagcatcc 12120  
tcgtgacagg gtttgtcgga accgccatcg cctttgggtg cttctctggc gccgccatca 12180  
tcgccaagcg caggaggtac ctgtacctcg gtggcctgct ctctctggc ctgtcgatcc 12240  
20 tgctctggct gcagtttgtc acgtccatct ttggccactc ctctggcagc ttcatgtttg 12300  
agggttactt tggcctgttg atcttctctg ggtacatggg gtacgacacg caggagatca 12360  
tcgagagggc gcaccatggc gacatggact acatcaagca cgccctcacc ctcttcaccg 12420  
actttgttgc cgtcctcgtc cgagtcctca tcatcatgct caagaacgca ggcgacaagt 12480  
cggaggacaa gaagaagagg aagagggggg cctgaacgtw tctcccgcac atgtagatac 12540  
25 cgtcacccgc tcgacctgca ggcattgccc ctgaaatcac cagtctctct ctacaaatct 12600  
atctctctca taataatgtg tgagtagttc ccagataagg gaattagggt tcttataggg 12660  
tttcgctcat gtgttgagca tataagaaac ccttagtatg ttttgtatt tgtaaaatac 12720  
ttctatcaat aaaatttcta attcctaaaa ccaaaatcca gtgggtaccg agctcg 12776